Über den Gehalt der Proteinstoffe in den verschiedensten Nahrungs- und Genußmitteln an lose gebundenem Schwefel

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
CASPAR THEOBALD
aus
Kerlingen-Saar

1937

LUDWIG BAUM, FRANKFURT A. M., REINECKSTRASSE 17–19, FERNRUF 24762

Referent: Prof. Dr. J. Tillmans †

Tag der mündl. Prüfung: 15. Februar 1937

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Inhaltsverzeichnis.

Einleitung 1
Literatur 1

Eigene Versuche

I. Herstellung einer geeigneten Vergleichslösung . . . 4
a) Herstellung u. Haltbarkeit d. Natriumsulfidlösungen 4
b) Ergebnisse bei der Titration von Na_2S-Lösungen . 5

II. Versuche zur Ausarbeitung eines colometrischen Verfahrens zur Bestimmung des in alkalischer Lösung beim Kochen von Eiweisskörpern abspaltbaren Schwefels . . 7
a) Mit Bleisalzlösungen 7
b) Quantitative Versuche mit Hilfe der Natriumsulfidlösungen 8
c) Beseitigung der bei der Herstellung der Vergleichslösungen auftretenden Störungen 9
d) Herstellung der Vergleichslösungen aus Eiweisslösungen 9
e) Versuche zur Schaffung einer Vergleichslösung mit Paraamidodimethylanilin 12

III. Versuche zur quantitativen Bestimmung des abspaltbaren Schwefels in den Proteinkörpern mit p-Amidodimethylanilin 15
1. Eiereiweiss und Eidotter 15
2. Alkohollösliche Proteine der Cerealin 16
3. Salzlösliche Proteine der Cerealien 24
4. Untersuchung der einzelnen Brotarten 26
5. Wasserteigwaren 27
6. Zersetzte Roggen- und Weizenmehle 27
7. Untersuchung der Proteinkörper der verschiedenen Milchsorten 28
a) Kaseine 28
b) Kaseine aus gekochter Milch 29
c) Kasein aus Trocken- und Kondensmilch . . . 30
d) Gesamtproteine der Milch 30
e) Milchserum 31
8. Salzlösliche Proteine der Hülsenfrüchte 31
9. Proteine der verschiedenen Fleischsorten 32
a) Salzlösliches Protein 32
b) Rindfleisch in verschiedenen Stadien der Zersetzung 33
10. Proteine der Gemüse 34
11. Kakao, Milchschokolade und Milchbrötchen . . . 35
12. Tabellarische Uebersicht der gefundenen Schwefelwerte 36

Zusammenfassung der Ergebnisse und Schluss 37

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552326_0078

Ueber den Gehalt der Proteinstoffe in den verschiedenen Nahrungs- und Genussmitteln an lose gebundenem Schwefel.

Die Forschungen E. Fischer's und Kossel's mit ihren Schülern und Mitarbeitern, wie auch die Forschungen anderer Autoren über die Zusammensetzung und Konstitution der Proteinstoffe haben dahin geführt, dass man heute ein ungefähres Bild über diese rätselhaften Körper gewonnen hat.

Freilich bleiben noch viele unerforschte Dinge weiter zu klären, von einer restlosen Erforschung der Konstitution kann auch bei weitem nicht die Rede sein. Nachdem hauptsächlich E. Fischer und seine Schüler die Methoden für die Untersuchungen der verschiedenen Eiweisskörper auf ihren Gehalt an Aminosäuren geschaffen hatten, haben sich eine ganze Reihe von Forschern mit der Aufgabe beschäftigt, mit Hülfe dieser Methode festzustellen, welche Zusammensetzung die verschiedenen in der Natur vorkommenden Proteine besitzen. Vor allem der amerikanische Physiologe Osborne und seine Schüler sind es, denen wir wichtige Aufklärungen über die Zusammensetzung der meisten natürlichen Eiweisstoffe in Bezug auf ihren Gehalt an Aminosäuren verdanken.

Auf den ersten Blick erscheint es uns befremdlich, dass in der praktischen Nahrungsmittelchemie für die Unterscheidung der verschiedenen in den Nahrungsmitteln vorkommenden Proteine kein oder nur in sehr seltenen Fälle Gebrauch gemacht wird. Dies ist aber bei näherer Ueberlegung durchaus verständlich. In der täglichen Praxis des Nahrungsmittelchemikers liegen zunächst von jeder zu untersuchenden Probe nur immer kleine Mengen von Material, im allgemeinen von 50 bis 250 g schwankend, vor. Für die Anwendung der E. Fischer'schen Methoden bedarf man aber viel grösserer Materialmengen. Dazu kommt, dass ein Nahrungsmittelchemiker auf die gestellten Fragen meist nach Ablauf weniger Tage seine Antwort zu erteilen hat. Selbst in solchen Fällen, in denen die für die Untersuchungen notwendigen grossen Materialmengen beschafft werden können, was ja in gewissen Fällen möglich sein wird, können diese Methoden dennoch nicht zur Anwendung gelangen, weil sie zuviel Zeit in Anspruch nehmen würden.

Literatur.

Verschiedene Forscher, wie Mörner[1]), Fleitmann[2]), Krüger[3]), Malerba[4]), Middeldorf[5]), Schulz[6]), die neben Osborne[7]), dem auf diesem Gebiete wohl die meisten Erfahrungen zu verdanken sind, arbeiteten, haben auf die verschiedenste Art und in den verschiedensten Eiweisskörpern den lose gebundenen Schwefel zu bestimmen versucht. Dass alle wenig übereinstimmende Resultate

1) Mörner, Ztschr. f. physiol. Chem., Bd. 24, S. 207.
2) Fleitmann, Annalen d. Chem. u. Pharm., Bd. 66, 1848, S. 381.
3) Krüger, Archiv f. d. gesamte Physiol., 43, 1888, 244.
4) Malerba, Rend. d. Accad. Napoli, II, 8. 1894, S. 69.
5) Middeldorf, Vers. d. Physiol.-Medizin. Ges. Würzburg, NF., 31, 1898, 30.
6) Schulz, Ztschr. d. physiol. Chem., 25, S. 30.
7) Th. B. Osborne in Abderhalden, Chem. Arbeitsmethoden, 2.

fanden, liegt wohl an der verschiedenen Arbeitsweise der Einzelnen, sowie daran, dass es sich bei diesen Bestimmungen doch meist um geringe Mengen von Schwefel handelt, die gewichtsanalytisch wohl nur ungenau zu bestimmen sind. Die wichtigsten Arbeiten nebst Arbeitsmethoden und den gefundenen Werten seien hier kurz angeführt.

Schulz bestimmte den abspaltbaren Schwefel durch mehrstündiges Kochen von 1 g Protein in 50 ccm einer 30%igen Sodalösung, der 1 g metallisches Zink und ein wenig essigsaures Blei zugefügt war. Verf. wollte die oxydierende Wirkung der Luft durch Zusatz von metallischem Zink zu verhindern suchen, wobei aber das Zink nach K. A. Mörner durch ausgeschiedenes Blei bald gänzlich eingehüllt wird, wodurch sein Vermögen, Sauerstoff aufzunehmen, wohl stark beeinträchtigt wird, eine weitere Unannehmlichkeit besteht darin, dass das Blei aus der Flüssigkeit bald ausgefällt wird, wodurch es dann auch schwierig wird, den Zusatz von Blei so zu regeln, dass immer gelöstes Blei zugegen ist. Das auf diese Weise erhaltene Bleisulfid wird abfiltriert und wie bei Mörner, der die Substanz in 50 g NaOH, 10 g Bleiacetat und 200 ccm Wasser nach Zusatz eines kleinen Stückchens Zink auf einem Drahtnetze 8 bis $8\,^1/_2$ Stunden kocht, weiterbehandelt. Das Zinkstückchen diente nur dem Zwecke, ein ruhiges Kochen der stark alkalischen Lösung zu ermöglichen, während der Einwirkung von Luft auf das Bleisulfid durch lebhafte Entwicklung von Wasserdampf vorgebeugt wurde. Nach 8 bis $8\,^1/_2$-stündigem Kochen wurde das ausgeschiedene Schwefelmetall auf einem Asbestfilter gesammelt, mit reiner verdünnter NaOH schnell gewaschen und dann der Niederschlag nach Zusatz von Salpetersäure mit Bromwasser oxydiert. Nach Eindampfen auf dem Wasserbade wurde der Rückstand mit Natriumkarbonat und etwas Wasser in einen Silbertigel gebracht, etwas Salpetersäure zugesetzt, eingedampft und die nitrathaltige Masse über der Weingeistflamme erhitzt. Darauf wurde mit Wasser ausgelaugt, das Ungelöste noch einmal mit Natriumkarbonatlösung erwärmt und mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wurde mit Bromwasser versetzt, mit reiner Salzsäure übersättigt und auf dem Wasserbade eingetrocknet. Der hierbei zurückbleibende Rückstand wird mit Salzsäure und Wasser gelöst, das ziemlich stark verdünnte Filtrat mit Bariumchlorid gefällt und das Bariumsulfat in gewöhnlicher Weise gereinigt und gewogen, woraus dann der Schwefelgehalt berechnet wurde.

Osborne bestimmte den Gesamtschwefel und den lose gebundenen Schwefel in einer Anzahl der verschiedensten Eiweisskörper und bediente sich dabei entweder des Verfahrens von Schulz oder des sog. Pressverfahrens. Bei dem ersten Verfahren wird der Gesamtschwefel durch Oxydation von 1 bis 2 g Protein mittels Natriumperoxyd, der lose gebundene Schwefel durch mehrstündiges Kochen von 1 g Protein in 50 ccm 30%iger Sodalösung, der 1 g metallisches Zink und etwas essigsaures Blei zugesetzt wurde, bestimmt. Bei dem Pressverfahren werden 1 bis 5 g Protein in einem Nickelgefäss mit 50 ccm 30%iger Sodalösung, die etwas essigsaures Blei enthielt, vermischt und das ganze in einem Autoklaven bei einer Temperatur von 135 bis 165° erhitzt. Dabei muss der Luftsauerstoff durch Pyrogallol absorbiert werden. Man erhält durch das stundenlange Erhitzen Bleisulfid, das abfiltriert, mit Wasser gewaschen, getrocknet und mit Soda und Natriumperoxyd zusammengeschmolzen wird. Darauf fällt

man den Schwefel als Bariumsulfat. Verf. hat nach diesem Verfahren, sowohl den Gesamtschwefel als auch den lose gebundenen Schwefel in einer grösseren Anzahl von Eiweisskörpern bestimmt. Er fand dabei in einer Anzahl von Analysen im Durchschnitt:

Name des Körpers	Ges. Schwefel	Los. geb. Schwefel
Gliadin	1,027 %	0,619 %
Hordein	0,847 %	0,348 %
Zein	0,600 %	0,212 %
Ovalbumin	1,616 %	0,419 %
Ovovitellin	1,028 %	0,362 %
Phaseolin		0,072 %
Vicilin		0,084 %
Casein (Kuh)	0,817 %	0,101 %

In der folgenden Tabelle findet sich eine Zusammenstellung der von einzelnen Forschern gefundenen Werte an lose gebundenem Schwefel in % :

	Mörner	Fleitmann	Krüger	Malerba	Middeldorf	Schulz	Osborne
Schalenhaut des Hühnereies	2,47	–	–	–	–	–	–
Serumalbumin kryst.	1,29	–	–	–	0,113	1,28	–
Serumalbumin nicht kryst.	1,02	–	–	0,411	–	–	–
Serumglobulin	0,67	–	–	–	–	0,63	–
Ovalbumin kryst.	0,42	–	–	–	–	0,49	0,491
Ovalbumin nicht kryst.	0,54	–	0,44	0,49	–	–	–
Fibrignogen	0,465	–	–	–	–	–	–
Fibrin	–	0,52	0,38	0,406	–	–	0,38
Casein	0,065	0,07	–	–	–	–	–

Es lässt sich so nicht näher ermitteln, weshalb die Ergebnisse der einzelnen Forscher so verschieden ausgefallen sind. Für einige Substanzen habe ich Werte erhalten, die mit denen von Schulz und Osborne übereinstimmen. Dass die Untersuchungen unsicher und sogar irreleitend werden können, wenn in ungeeigneter Weise gearbeitet wird, (Mangel an Bleisalz, Zutritt der Luft usw.) zeigen die manchmal ganz verschiedenen Resultate.

Ueber die Verteilung des Gesamtschwefels in den einzelnen Nahrungsmitteln macht Balland 1) folgende Angaben: Roggen, Mais, Gerste und Weizen des Handels enthalten 0,027 bis 0,046% Schwefel, Hafer und Buchweizen etwas mehr. Karotten 0,092, Lattich 0,214, Porreé 0,397, Kartoffeln 0,1 bis 0,123, trockene Gemüse (Bohnen, Erbsen, Linsen) 0,03 bis 0,18%, trockenes Fruchtfleisch von Aprikosen 0,021, Kirschen 0,1, Erdbeeren 0,012, Pfirsische 0,01% Schwefel.

1) Balland, Journ. de pharm. et de chim. 1907, 25, 49–51.

Die bisherigen Resultate, die für den lose gebundenen Schwefel gefunden wurden, sind also zum Teil widersprechend und nach Methoden gewonnen, die recht unbequem und vielfach wahrscheinlich auch ungenau sind. Es ist also eine dankenswerte Aufgabe, zu versuchen, auf anderem Wege eine einfachere und sichere Methode zur Bestimmung des abspaltbaren Schwefels in den Eiweisskörpern zu schaffen. Unter Berücksichtigung der oben angeführten Umstände, der zur Verfügung stehenden Materialmengen und der Zeit, innerhalb der die Untersuchung erledigt sein muss, wurde der Weg der Kolorimetrie beschritten. Ich versuchte also die Menge des abspaltbaren Schwefels bei den verschiedensten Proteinen auf kolorimetrischem Wege zu ermitteln.

Eigene Versuche.

I. Herstellung einer geeigneten Vergleichslösung.

Die Grundbedingung aller kolorimetrischen Versuche ist es nun, eine für quantitative Bestimmungen des Schwefels in Eiweisskörpern brauchbare Vergleichslösung zu schaffen. Bereits L. W. Winkler stellte auf ähnliche Weise den Gehalt an Schwefelwasserstoff in Abwässern durch Vergleichslösungen fest, deren Schwefelwasserstoffgehalt bekannt war, indem er sowohl zu dem geklärten Abwasser als auch zu den Vergleichslösungen etwas Bleinitrat gab, wodurch dann bei Gegenwart von Natronlauge braun gefärbte Lösungen des kolloidalen Bleisulfids erhalten wurden. Beide Lösungen wurden dann in Hehnerzylinder gebracht und aus einem der beiden Zylinder solange von der Flüssigkeit abgelassen, bis Farbengleichheit mit dem zweiten Zylinder bei Durchsicht von oben erreicht war, und dann der Schwefelwasserstoffgehalt rechnerisch ermittelt.

Verschiedene Versuche, Vergleichslösungen durch Zusammenmischungen von Lösungen anorganischer Salze zur Bestimmung des Schwefelgehaltes in Eiweisskörpern zu erhalten, die den dunkel gefärbten Bleisulfidlösungen im Farbton gleich waren, blieben erfolglos, da eine den Eiweisskörpern gleiche Farbtönung hier nicht erreicht werden konnte.

a) Herstellung und Haltbarkeit der Natriumsulfidlösungen mit genauen Angaben über die Veränderung dieser Lösungen.

Für meine weiteren Versuche kamen also nur noch Natriumsulfidlösungen als Vergleichslösungen in Frage. Vor Beginn weiterer Arbeiten mussten nun die bei der Verwendung von Natriumsulfidlösungen bestehenden Schwierigkeiten, die einesteils in der genauen Bestimmung des Gehaltes an Natriumsulfid, andererseits in der leichten Oxydierbarkeit bezw. Veränderung dieser Lösungen bei kürzerem oder längerem Stehen liegen, beseitigt werden.

10 g reinstes Natriumsulfid Na_2S+9H_2O (Kahlbaum) wurden in 100 ccm 1%iger Natronlauge gelöst. Das zur Lösung verwendete Wasser wurde in allen Fällen vor der Benutzung zur Entfernung des Sauerstoffs ausgekocht. Mit eben solchem ausgekochtem Wasser wurden

dann auch verdünntere Lösungen obigen Salzes bereitet, in denen dann der Schwefelwasserstoff auf jodometrischem Wege ermittelt wurde.

Ueber die Bestimmung des Schwefels resp. des Schwefelwasserstoffgehaltes der wasserlöslichen Alkalisulfide finden sich in der Literatur stark widersprechende Angaben. Da die genaue Feststellung des Gehaltes von Natriumsulfidlösungen die Grundlage für unsere colorimetrischen Versuche ist, so musste vor Beginn dieser Arbeiten eine genaue Methode zur Ermittlung des Schwefelgehaltes gefunden werden.

Nach Treadwell wurde 3 × 0,1 g reinstes Natriumsulfid (Kahlbaum) in destilliertem Wasser gelöst und mit Bromwasser bis zur bleibenden Braunfärbung versetzt, erwärmt, mit Salzsäure angesäuert und die Schwefelsäure mit Bariumchlorid gefällt. Dann wurde das Bariumsulfat geglüht und gewogen.

$$BaSO_4 = 0{,}0968,\ 0{,}0965,\ 0{,}0969\ g.$$

Die erhaltenen Werte entsprechen einem Schwefelgehalt von im Mittel 0,01329 g.

In 1 g $Na_2S + 9H_2O$ enthalten 0,1329 g Schwefel. Die erhaltenen Resultate stimmen mit den bei reinem Salze zu erwartenden Werten fast überein.

Zu weiteren Versuchen wurde dann 1 g Natriumsulfid in 100 ccm 1 prozentiger Natronlauge gelöst und von dieser Lösung 10 ccm mit 1 prozentiger Natronlauge auf 100 ccm aufgefüllt. Mit je 20 ccm dieser Lösung, die 0,02 g Natriumsulfid in 20 ccm enthielt, wurden dann die von den einzelnen Autoren angegebenen massanalytischen Titrationen angestellt, zu diesem Zwecke wurde eine 1/100 n Thiosulfat und eine ebensolche Jodlösung hergestellt.

Autenrieth 1) bestimmte den Schwefelwasserstoff in Alkalisulfiden durch direkte Titration mit Jodlösung bei Anwesenheit von Natriumkarbonat im Ueberschuss, während Treadwell 1) die Natriumsulfidlösung in angesäuerte, überschüssige n/100 Jodlösung mittels Pipette einträgt und den Ueberschuss an Jod mit Natriumthiosulfat zurücktitriert.

Es wurden nun mit je 20 ccm der 0,1 prozentigen Na_2S-Lösungen mehrere Versuche nach beiden Methoden angestellt, deren Ergebnisse tabellarisch geordnet folgen:

b) Ergebnisse bei der Titration von Na_2S-Lösungen.

Nach Autenrieth	Nach Treadwell
ermittelter Gehalt an Schwefel	
0,1491 %	0,1334 %
0,1488 %	0,1330 %
0,1489 %	0,1329 %
0,1475 %	0,1334 %
0,1520 %	0,1328 %
im Mittel : 0,148 % S	im Mittel : 0,133 % S

1) Autenrieth, Quantitative Analyse.
1) Treadwell, Quantitative Arbeitsmethoden.

Es zeigte sich, dass beim Titrieren in überschüssiger Natriumbikarbonatlösung zu hohe Werte sowohl gegenüber den Bestimmungen, die gewichtsanalytisch ausgeführt wurden, als auch gegenüber denen, die durch Zufügen des Natriumsulfides zu angesäuerten Jodlösungen, wo der Ueberschuss an Jod mit $Na_2S_2O_3$ zurücktitriert wurde, gefunden werden. Die letzteren Befunde nach Treadwell stimmen mit den bei der Gewichtsanalyse gefundenen Werten vollkommen überein, sodass fortan in allen Lösungen nach diesem Verfahren der Schwefelgehalt ermittelt wurde.

Der Vorgang bei der Bestimmung des Schwefels vollzieht sich in der Weise, dass beim Eintragen der Natriumsulfidlösung in angesäuerte Jodlösung der Schwefelwasserstoff unter Abscheidung von Schwefel nach folgender Formel oxydiert wird :

$$H_2S + J_2 = 2HJ + S.$$

Nachdem auf diese Weise eine genaue Methode zur Ermittlung des Schwefelgehaltes in den Lösungen gefunden war, wurde die Veränderung einzelner Lösungen in den verschiedensten Konzentrationsverhältnissen untersucht, da die Lösungen beim Stehenlassen, auch wenn die Gefässe gut verschlossen waren, nach einiger Zeit einen viel geringeren Schwefelgehalt zeigten. Der Uebersicht halber sind diese Versuche in folgender Tabelle aufgeführt :

Die Versuche wurden in allen Fällen mit je 20 ccm einer 0,01 prozentigen Na_2S-Lösung gemacht, die aus den stärkeren Lösungen stets mit doppelt destilliertem Wasser frisch bereitet wurde.

Es wurde gefunden :

I. Beim Aufbewahren 10 % iger Na_2S-Lösung in 1 % NaOH
II. Beim Aufbewahren 1 % iger Na_2S-Lösung in 1 % NaOH
III. Beim Aufbewahren 0,1 % iger Na_2S-Lösung in 1 % NaOH

gefunden an Schwefel in mg :

frisch bereitete Lösungen	I	II	III
am 28. 1. 24.	0,259	0,252	0,255
„ 29. 1. 24.	0,252	0,248	0,211
„ 30. 1. 24.	0,253	0,244	0,199
„ 1. 2. 24.	0,251	0,219	0,187
„ 7. 2. 24.	0,249	0,200	0,121
„ 14. 2. 24.	0,247	0,181	0,115
„ 21. 2. 24	0,243	0,142	0,072

0,1 und 0,01 % ige Lösungen zeigten :

0,1 % ige Lösung		0,01 % ige Lösung	
frisch bereitet	0,255 mg S	frisch bereitet	0,250 mg S
nach 2 Stunden	0,250 mg S	nach ¼ Stunden	0,248 mg S
nach 4 Stunden	0,242 mg S	nach ½ Stunden	0,243 mg S
nach 8 Stunden	0,236 mg S	nach 1 Stunden	0,240 mg S
nach 24 Stunden	0,209 mg S	nach 2 Stunden	0,232 mg S

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass sich beim Stehenlassen der 10%igen Lösung nach ca. 3 Wochen fast keine Veränderung zeigte, während 1 prozentige ca. 45 – 50 und 0,1 prozentige Lösungen in derselben Zeit ca. 75 % ihres Wirkungswertes verloren hatten. 0,01 prozentige Lösungen hielten sich fast unverändert 2 Stunden, sodass für

unsere Bestimmungen der Schwefelgehalt zu Beginn eines jeden Versuches neu bestimmt werden musste, da sich eine fortlaufend gleichmässige Veränderung der Lösungen nicht bestätigte. Aus diesem Grunde wurde also nur eine 10 prozentige Lösung vorrätig gehalten und die schwächeren Lösungen vor Beginn eines jeden Versuches nach Bedarf durch Verdünnen mit doppelt destilliertem Wasser hergestellt.

II. Versuche zur Ausarbeitung eines colorimetrischen Verfahrens zur Bestimmung des in alkalischer Lösung beim Kochen von Eiweisskörpern abspaltbaren Schwefels.

a) Mit Bleisalzlösungen.

Eine der bekanntesten Eiweissreaktionen ist die auf dem Schwefelgehalte der Eiweisskörper beruhende Schwefelbleireaktion, die beim Kochen schwefelhaltiger Eiweisskörper in Natronlauge bei Gegenwart von Bleisalzen auftritt und der Lösung durch das kolloidal gelöste Bleisulfid eine Braunfärbung erteilt. Es ist allgemein bekannt, dass beim Kochen von Proteinkörpern mit Lauge nur ein Teil des in ihnen enthaltenen Schwefels als Schwefelkali abgespalten wird, während ein Teil des Schwefels im Molekül zurückbleibt. Man hat nun zwei verschiedene Bindungsformen des Schwefels angenommen und von oxydiertem und nicht oxydiertem resp. von fest gebundenem und locker gebundenem oder bleischwärzendem Schwefel gesprochen, der in verschiedener Menge in den verschiedenen Proteinkörpern vorkommt. Durch eine Reihe von Versuchen wurde die soeben beschriebene Bleireaktion für die quantitative Bestimmung des lose gebundenen Schwefels in Proteinkörpern brauchbar gemacht.

Versuche mit Albuminlösungen.

Ein gr. käufliches Eieralbumin (Albumen ovi siccum) wurde in 100 ccm 1%iger Natronlauge 1 Stunde im Wasserbade gekocht. Nach dem Erkalten wurden je 10 ccm dieser Lösung in 100 ccm Zylinder gebracht, in denen sich 2,5 ccm 10%iger Natronlauge, 1 ccm Bleilösung und 86,5 ccm doppelt destilliertes Wasser befanden. Alle Lösungen zeigten nach Umrühren mit einem Glasstab gleich nach dem Eintragen eine schöne gelbbraune Färbung, die sich bis zu 2 Stunden unverändert hielt. Sämtliche vier Zylinder zeigten genau denselben Farbton und dieselbe Stärke der Färbung.

Dann wurden verschiedene Proben 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 und 1 g Albumin ebenfalls in 100 ccm 1%iger Natronlauge 1 Stunde im Wasserbade gekocht und aus jedem Kölbchen 10 ccm in Zylinder gebracht, die schon 2,5 ccm 10%iger Natronlauge und 1 ccm 1%ige Bleinitratlösung in 90 ccm Wasser enthielten, wobei je nach der Konzentration der zugesetzten Eiweisslösung schön abgestufte gelbe bis gelbbraune Lösungen erhalten wurden. Dieselben Versuche wurden mit Albuminlösungen angestellt, indem man zu den einzelnen Proben verschiedene Bleimengen zugab, wobei bei solchen Lösungen die 2, 3, 4 und 5 ccm der Bleilösung enthielten, dieselbe Farbstärke beobachtet wurde, wie bei den Lösungen, die nur 1 ccm Blei-Nitratlösung ent-

hielten. Es wurde also fortan bei allen Versuchen nur 1 ccm der Bleilösung zugefügt. Versuche, zuerst die Albuminlösung mit der Natronlauge in die Kolben zu bringen und dann erst Blei zuzugeben, zeigten stets ganz verschiedene Resultate. Zur näheren Prüfung dieses Umstandes wurde in zwei Zylinder je 1 ccm 1%ige Bleinitratlösung und 2,5 ccm 10%iger Natronlauge gebracht, mit Wasser auf 90 ccm aufgefüllt und unter Umrühren je 10 ccm 1%ige Albuminlösung zugefügt. In zwei weitere Zylinder wurden 2,5 ccm 10%ige Natronlauge und 10 ccm der Albuminlösung mit Wasser auf 99 ccm aufgefüllt, wobei festgestellt wurde, dass die Zylinder, in denen das Blei zuletzt zugesetzt worden war, bedeutend heller gefärbt waren als die Lösungen, in denen das Blei vor dem Zusatze der Eiweisslösung eingetragen wurde. Es muss also die genaue Reihenfolge bei den Lösungen eingehalten werden, und erst das Bleinitrat, dann die Natronlauge und das Wasser und zuletzt die Eiweisslösung zugegeben werden.

Es war nun noch festzustellen, ob bei kürzerem oder längerem Kochen, sowie bei Konzentrationsveränderung der zum Kochen verwandten Natronlauge eine Veränderung der Färbung gefunden würde. Zu diesem Zwecke wurden verschiedene Proben von Albumin in 1%iger Natronlauge eine, zwei, drei, vier und fünf Stunden gekocht. Dieselben Versuche wurden dann auch in 1%iger, 2%iger und 5%iger Natronlauge angestellt und in allen Fällen gleiche Färbung der Lösungen beobachtet. Da auf diese Weise festgestellt war, dass sowohl 1%ige Natronlauge als auch einstündiges Kochen in dieser Konzentration genügte, wurde zur quantitativen Bestimmung des durch einstündiges Kochen der Lösungen in 1%iger Natronlauge abgespaltenen Schwefels geschritten.

b) Quantitative Versuche mit Hilfe der Natriumsulfidlösungen.

Die vorrätig gehaltene 10 prozentige Natriumsulfidlösung wurde mit doppelt destilliertem Wasser 10 : 100 verdünnt. In mehrere 100 ccm Zylinder wurde dann wie bei den Versuchen mit Albuminlösung ebenfalls 2,5 ccm 10 prozentiger Natronlauge und 1 ccm 1 prozentiger Bleinitratlösung gebracht und dann mit doppelt destilliertem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Beim Zusatz einiger Tropfen der 1 prozentigen Lösung zu letzterem Gemische, das vorher gut umgeschüttelt wurde, zeigte sich eine Braunfärbung der Lösung, die aber sofort unter Bildung schwarzbrauner Flocken die braune Färbung verlor und undurchsichtig wurde, was offenbar an der zu starken Konzentration der Natriumsulfidlösung lag. Aus diesem Grunde wurde auf 0,1 prozentige Natriumsulfidlösung weiter verdünnt. In mehrere Zylinder wurde dann ebenfalls wieder Natronlauge, Bleilösung und Wasser gebracht und dann zu dieser Flüssigkeit 1 ccm der 0,1 prozentigen Natriumsulfidlösung zugesetzt, wobei eine schöne braungefärbte Lösung erhalten wurde; da auch hier noch eine sehr starke Dunkelfärbung der Lösung festgestellt wurde, stellte ich nunmehr durch Verdünnen eine 0,1 prozentige Lösung des Natriumsulfides her, die für unsere Zwecke wegen ihres nur schwachen Färbevermögens am günstigsten schien.

In mehrere 100 ccm Zylinder wurden dann wiederum 2,5 ccm 10-prozentige Natronlauge und 1 ccm Bleinitratlösung gebracht und mit Wasser auf 90 ccm aufgefüllt. Dann wurden verschiedene Mengen der Natriumsulfidlösung 1, 2, 3, 4, 8 und 10 ccm in die Zylinder gebracht

und mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Sämtliche Zylinder zeigten je nach dem Gehalte an Natriumsulfidlösung schön abgestufte Färbungen.

In 4 weitere Zylinder wurden je 2,5 ccm Natronlauge, 1 ccm 1-prozentige Bleilösung gebracht und nachdem mit Wasser auf 90 ccm aufgefüllt war, je 10 ccm der 0,01 prozentigen Natriumsulfidlösung unter Umrühren zugegeben. Dann wurden 4 Zylinder mit denselben Reagenzien auf 90 ccm aufgefüllt und aus einer Bürette 0,01 prozentige Natriumsulfidlösung zufliessen lassen, bis Farbengleichheit mit den ersten Lösungen erreicht war. Bis zur Farbengleichheit wurde bei den vier Versuchen verbraucht :

I.	II.	III.	IV.
9,8 ccm	10,1 ccm	9,9 ccm	10,1 ccm

Im Mittel wurden also rund 10 ccm der 0,01 prozentigen Lösung verbraucht. Mehrere Versuche ergaben dann noch, dass die Reihenfolge bei der Zugabe der Reagenzien in der angegebenen Weise erfolgen muss, da bei nachträglichem Bleizusatz auch bei Lösungen gleicher Konzentration stark differente Färbungen eintraten.

c) Beseitigung der bei der Herstellung der Vergleichlösungen auftretenden Störungen.

Bei den bis jetzt gemachten Versuchen wurde beobachtet, dass die Lösungen nur sehr kurze Zeit haltbar waren und dann durch Ausscheidung schwarzbrauner Flocken stark getrübt wurden. Diese Erscheinung beruhte auf der Bildung von Bleisulfid, das in wässriger Lösung nur sehr schwer in kolloidalem Zustande gehalten wird. Aus diesem Grunde wurde nun der Zusatz eines Schutzkolloides erwogen, das in Gelatina alba gefunden wurde. 2 g weisse Gelatine wurden in 100 ccm Wasser unter Erwärmen gelöst und dann bei der Darstellung der Bleisalzlösungen je 2 ccm der Gelatinelösung zugegeben, wodurch zwar eine sehr lange Haltbarkeit der Lösungen erreicht, aber die Farbtönung so nach rot hin verändert wurde, dass Vergleiche mit den durch Bleilösungen in den Eiweisslösungen hervorgerufenen Färbungen nicht angestellt werden konnten.

d) Herstellung der Vergleichslösungen aus Eiweisslösungen.

Infolge der oben beschriebenen Schwierigkeiten wurden nun Versuche mit in Natronlauge gekochten Albuminlösungen gemacht, um diese, die doch dieselben Stoffe, wie die zur Verwendung kommenden Eiweisslösungen enthielten, zu Vergleichslösungen brauchbar zu machen. Zu diesem Zwecke wurden 2 g getrocknetes Eieralbumin in 100 ccm 1 prozentiger Natronlauge 1 Stunde im Wasserbade gekocht, dann mit Salzsäure angesäuert und die Lösung zur Entfernung des Schwefelwassertoffs solange erhitzt, bis weder durch Geruchsprobe noch durch Bleipapier Schwefelwasserstoff nachgewiesen werden konnte. Dann wurde wieder mit starker Natronlauge alkalisch gemacht, um die beim Kochen mit Salzsäure ausgeschiedenen Stoffe zu lösen, erkalten lassen, mit Salzsäure neutralisiert und in 1 prozentiger NaOH-Konzentration auf 200 ccm gebracht. Von der so hergestellten Vergleichslösung wurden je 10 ccm in 4 Zylinder zu 1 ccm Bleinitrat-

lösung und 90 ccm Wasser gegeben, dann je 10 ccm einer 0,01 prozentigen Natriumsulfidlösung hinzugefügt. Alle vier Zylinder zeigten vollkommen gleiche Färbung, die auch denselben Farbton wie bei Eiweisslösungen aufwies und ausserdem längere Zeit haltbar war. Beim Zusatz von verschiedenen Mengen der Natriumsulfidlösung wurden auch hier schön abgestufte Färbungen erhalten, sodass diese Arbeitsweise für die späteren Versuche allein in Frage kam.

Nachdem auf diese Weise eine geeignete gut brauchbare Vergleichslösung gefunden war, wurden die Versuche für die quantitative Bestimmung des Schwefels in der Weise durchgeführt, dass in einen 100 ccm Zylinder 1 ccm 1%ige Bleilösung, 2,5 ccm 10%ige NaOH mit Wasser auf 90 ccm aufgefüllt wurden. Zu diesem Gemische wurden unter Umrühren 10 ccm der 1 Stunde in 100 ccm 1%iger Natronlauge gekochten Proteinlösung unter Umrühren zugegeben. Die so erhaltene, auf der Bildung von Bleisulfid beruhende Färbung, wurde dann mit den vorher beschriebenen Natriumsulfidbleivergleichslösungen verglichen. Die Bleivergleichslösungen wurden so bereitet, dass man in 100 ccm Zylinder je 2,5 ccm 10%ige Natronlauge, 1 ccm 1%ige Bleilösung brachte und mit doppelt destilliertem Wasser auf 90 ccm auffüllte. Zu dieser Lösung wurde aus einer Bürette solange 0,01%ige Natriumsulfidlösung zugegeben, bis Farbengleichheit mit den durch das Bleisalz in den Eiweisslösungen hervorgebrachten Färbungen erreicht war. Dann wurde auf 100 ccm aufgefüllt und aus dem Verbrauch an Natriumsulfidlösung der Gehalt des Eiweisskörpers an Schwefel ermittelt.

Eieralbumin.

1 g käufliches Eieralbumin (Albumen ovi sicc.) wurde in 100 ccm 1%iger NaOH eine Stunde unter zeitweiligem Schütteln der Lösung gekocht, dann erkalten lassen und in 100 ccm Zylinder, die 2,5 ccm Natronlauge und 1 ccm 1%ige Bleilösung enthielten und mit Wasser auf 90 ccm aufgefüllt waren, je 10 ccm der gekochten Eiweisslösung eingetragen. Dann wurde mit einem Glasstabe gut umgerührt und die Vergleichslösung vorbereitet. Von den restlichen 80 ccm der Lösung wurde in 2×10 ccm der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Die Vergleichslösung wurde wie früher angegeben durch Entfernen des Schwefelwasserstoffs aus der Eiweisslösung bereitet. In mehrere Zylinder, die bereits 2,5 ccm Natronlauge und 1 ccm Bleilösung enthielten, wurden 10 ccm der Eiweissvergleichslösung zugefügt und dann mit Wasser auf 90 ccm aufgefüllt. Von der titrierten 0,01%igen Natriumsulfidlösung wurde solange aus einer Bürette zufliessen lassen, bis Farbengleichheit mit der durch die Eiweisslösungen hervorgerufenen Färbung erreicht war. Aus der Menge des verbrauchten Natriumsulfides wird der Gehalt an Schwefel im Albumin unter Berücksichtigung des Stickstoffgehaltes der Albuminlösung rechnerisch ermittelt. Mehrere Versuche, die in der gleichen Weise ausgeführt wurden, ergaben folgende Resultate:

Von der Vergleichslösung wurden bis zur gleichen Färbung mit den Albuminlösungen verbraucht:

I.	9,5 ccm 0,01 % Na_2S-Lösung	= 0,2102	mg S	= 0,0119	g Stickstoff
II.	9,7 ccm	= 0,212	mg S	= 0,0119	g Stickstoff
III.	9,5 ccm	= 0,210	mg S	= 0,0119	g Stickstoff
IV.	9,4 ccm	= 0,209	mg S	= 0,0119	g Stickstoff

Hieraus berechnet sich der Gehalt an abspaltbarem Schwefel in % des Stickstoffs für das Albumin zu 1,77 % Schwefel.

Dann wurden Versuche angestellt, in denen mehrere Stunden gekocht wurde.

1 Stunde gekocht	2 1/2 Stunden gekocht	5 Stunden gekocht
1,83 % S	1,75 % S	1,72 % S
1,81 % S	1,74 % S	1,77 % S
1,79 % S	1,77 % S	1,78 % S

Bei Albuminlösungen, die in verschiedener Natronlaugekonzentration gekocht wurden, ergaben sich folgende Werte :

2 1/2 %ige Natronlauge	5 %ige Natronlauge
1,79 % S	1,74 % S
1,75 % S	1,82 % S

Es wurde also bei allen Versuchen sowohl bei Veränderung der Kochzeit als auch bei Veränderung der zum Kochen verwandten Natronlaugekonzentration ein nennenswerter Unterschied in den einzelnen Werten nicht gefunden.

Frisches Hühnereiweiss.

Von mehreren Eiern wurde das Eiweiss vom Dotter getrennt, gut verrührt und dann je 7 g in 5 Erlenmeyerkölbchen gebracht und 1 Stunde in 100 ccm 1 prozentiger Natronlauge gekocht.

Schwefel in % des Stickstoffs gefunden :

1,78 % 1,82 % 1,83 % 1,76 % 1,81 %.

Im Mittel gefunden S in % des Stickstoffs 1.80% Schwefel.

Eidotter.

In derselben Weise wie beim Eiweiss wurde Eidotter gut verrührt und je 6 g in 4 Erlenmeyerkölbchen in 100 ccm 1 prozentiger Natronlauge 1 Stunde gekocht und die Versuche mit Vergleichslösungen in der üblichen Weise anzustellen versucht. Hierbei zeigte sich jedoch, dass bei Herstellung der Vergleichslösung durch den Zusatz der Salzsäure und das Erhitzen der Lösung zur Entfernung des Schwefelwasserstoffs eine vollständig trübe Lösung unter Abscheidung eines flockigen Niederschlages erhalten wurde. Versuche, diesen Niederschlag wie früher durch Natronlauge wieder zu lösen, um dadurch die Lösung zu klären, blieben ohne Erfolg, sodass diese als Vergleichslösung unbrauchbar war. Da dieser Umstand durch den hohen Fettgehalt des Eidotters bedingt sein konnte, wurde der Dotter in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade bis zur festen Konsistenz eingedampft, dann mit Aether mehrere Male dekantiert und getrocknet. Nachdem auf diese Weise der grösste Teil des Fettes entfernt war, wurde noch 6 Stunden im Soxhlet mit Aether extrahiert, im Dampftrockenschrank getrocknet und von der so erhaltenen Masse 1 g in 100 ccm 1 prozentiger Natronlauge gekocht. Aber auch jetzt traten bei Herstellung der Vergleichslösung dieselben Schwierigkeiten auf, sodass auf diese Weise nicht weiter gearbeitet werden konnte. Als dann bei der Untersuchung der Proteine des Weizens sich zeigte, dass die Lösungen durch die beim Kochen in Natronlauge auftretende Carame-

lisierung der im Mehl enthaltenden Kohlenhydrate schon so braun gefärbt wurden, dass durch die Bildung des Bleisulfides in den Lösungen keine weitere Dunkelfärbung mehr zu beobachten war, wurde nach dieser Methode nicht mehr weiter gearbeitet.

e) Versuche zur Schaffung einer Vergleichslösung mit Paraamidodimethylanilin.

Da aus obenangeführten Gründen mit den Bleivergleichslösungen nicht mehr weiter gearbeitet werden konnte, wurde auf Anregung von Herrn Prof. Dr. J. Tillmans, die in seinem Wasserbuche für den qualitativen Nachweis von Schwefelwasserstoff in Abwässern angegebene Methode auf ihre quantitative Verwertbarkeit geprüft. Die Reaktion verläuft folgendermassen :

Paraamidodimethylanilin versetzt man allmählich bis zur Lösung mit kleinen Mengen verdünnter Schwefelsäure. Einige Tropfen dieser Lösung fügt man in einem Becherglase zu verdünntem Schwefelwasserstoffwasser, welches man mit 1/50 seines Volumens an konzentrierter Salzsäure versetzt hat. Fügt man zu dieser Mischung nun einige Tropfen einer verdünnten Eisenchloridlösung, so erhält man eine intensive Färbung von Methylenblau. Diese Farbstoffreaktion, die auch die kleinsten Mengen von H_2S zu erkennen gestattet, wird in grossem Maßstabe zur technischen Darstellung von Methylenblau ausgeführt. Die Reaktion verläuft folgendermassen :

Aus zwei Molekülen des Diamins spaltet sich bei der Oxydation mit Eisenchlorid zunächst ein Molekül Ammoniak ab, wobei ein Derivat des Diphenylamins gebildet wird.

Bei Gegenwart von H_2S und HCl bildet sich dann aus dem Diphenylamin durch oxydierende Wirkung des Eisenchlorides ein Derivat des Thiodiphenylamins, das Methylenblau.

Später brachte mir dann eine im Erscheinen begriffene Arbeit von Autenrieth u. Breh, von der ich einen Auszug in Korrekturbogen sah, einige Anregungen. Nach diesen wurde H_2S im Wasser in den kleinsten Mengen bestimmt, indem sie in Schwefelwasserstofflösungen den Gehalt an H_2S mit n/10 Jodlösung festlegten, dann die Lösung stark verdünnten und abgemessene Proben in einen 200 ccm Kolben brachten, der einige mg Paraamidodimethylanilin in einigen ccm Wasser gelöst enthielt, setzten dann ca. 1/50 des Volumens an konzentrierter Salzsäure hinzu und schliesslich unter Umrühren einige Tropfen Eisenchloridlösung. Nach 20–25 minütigem Stehen war die Methylenblaubildung beendet und der Geruch nach Schwefelwasserstoff verschwunden. Dann wurde der Kolben mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und mit vorher bereiteten stark verdünnten alkoholischen Methylenblaulösungen eine Farbenskala geschaffen, mit der dann in den späteren Versuchen der Gehalt an H_2S ermittelt werden konnte.

Eigene Versuche, diese Methode auf Eiweisskörper anzuwenden.

Es wurden nun Versuche mit Albuminlösungen unter den gleichen Bedingungen wie bei den wässerigen Lösungen mit je 10 ccm einer in 1 prozentiger NaOH gekochten 1 prozentigen Albuminlösung angestellt, wobei sich zeigte, dass bei Zusatz von nur 1/50 des Volumens

an Salzsäure und wenigen Tropfen Eisenchlorid überhaupt keine Blaufärbung erreicht wurde. Bei Zusatz von mehr Salzsäure und 1 ccm einer 5prozentigen Eisenchloridlösung trat dann in den Eiweisslösungen eine rotviolette Färbung auf, die aber bald verschwand, worauf die Lösung schön blau gefärbt wurde. Bei weiterem Arbeiten wurde dann auch bemerkt, dass die Rotfärbung nur dann auftrat, wenn die Salzsäure erst nach den Reagentien zu der Eiweisslösung gegeben wurde. Aus diesem Grunde wurden weitere Versuche gemacht, bei welchen das Paraamidodimethylanilin in konz. Salzsäure gelöst wurde, davon 1 ccm in das Röhrchen gebracht, dann 1 ccm konz. Salzsäure und 0,5 ccm einer 5prozentigen Eisenchloridlösung zugegeben, umgeschüttelt und dann die schon gekochte Albuminlösung eingetragen. Das Röhrchen wurde verschlossen, umgeschüttelt, dann einige Zeit stehen lassen, wobei immer sehr schöne tiefblaue Färbungen erhalten wurden. Da also hier die günstigsten Mengenverhältnisse für die einzelnen Reagentien gefunden waren, wurde eine 0,5 prozentige Paraamidodimethylanilinlösung in konz. Salzsäure und eine 5 prozentige Eisenchloridlösung bereitet.

Bis jetzt waren für die einzelnen Versuche 1prozentige Albuminlösungen angewandt worden, die aber für unsere weiteren Versuche nicht in Frage kommen konnten, da für Vergleichszwecke die Lösungen bei dieser Konzentration zu tief blau gefärbt wurden. Fortan wurden also für unsere quantitativen Versuche nur 0,2 prozentige Lösungen verwandt.

Durch verschiedene Versuche wurde dann noch festgestellt, dass die grösste Dunkelfärbung der Lösungen nach ca. 20 Minuten erreicht war, und dass sich die Farblösungen tagelang unverändert hielten. Da aber die Farbtöne bei Zugabe der Reagenzien für jeden Eiweisskörper verschieden waren, so konnten Methylenblaulösungen als Vergleichslösungen nicht benutzt werden, sondern die für die Versuche verwendeten Eiweisslösungen wurden wie früher mit Salzsäure versetzt, vermittels Durchleiten von Luft an der Wasserstrahlpumpe vom H_2S befreit und dann mit diesen Lösungen durch Zusatz bestimmter Mengen einer Natriumsulfidlösung bekannter Konzentrationen der Schwefelgehalt des Eiweisskörpers ermittelt.

In zwei Erlenmeyerkolben wurden je 0,2 g Eieralbumin im Wasserbade 1 Stunde gekocht und nach dem Erkalten – dieses wurde durch Einstellen in kaltes Wasser beschleunigt – aus jedem Kölbchen zweimal 10 ccm in Planktonröhrchen mit eingeriebenem Glasstöpsel (s. nebenstehende Abbildung) gebracht, die mit 1 ccm 0,5 prozentiger Paraamido-

dimethylanilinlösung und 1 ccm Eisenchloridlösung beschickt waren. Die Röhrchen waren mit eingeriebenem Glasstöpsel versehen, um ein Entweichen des sich bildenden Schwefelwasserstoffs zu verhindern. Nach Einbringen von 10 ccm der Eiweisslösung wurde gut umgeschüttelt und die Röhren nach 20–25 Minuten mit den Vergleichslösungen verglichen. Von den restlichen 80 ccm der Eiweisslösung wurden aus jedem Kölbchen 20 ccm zur Bestimmung des Stickstoffs benutzt, während die restlichen 120 ccm der Lösung mit 12 ccm HCl versetzt wurden. Dann wurde durch Durchleiten von Luft der Schwefelwasserstoff aus der Lösung entfernt, dessen Abwesenheit durch Geruchsprobe und Bleipapier festgestellt wurde. In mehrere der vorher beschriebenen Röhren war dann ebenfalls 1 ccm 0,5 prozentige Paraamidodimethylanilinlösung und 1 ccm 5 prozentiger Eisenchloridlösung gebracht worden. In eines dieser Röhrchen wurde dann zu einem orientierenden Vorversuch eine bestimmte Menge, etwa 0,5 ccm der 0,1 prozentigen Natriumsulfidlösung und 10 ccm der vom H_2S befreiten Eiweisslösung gebracht. Je nachdem die Lösung dunkler oder heller als die Eiweissfarblösung ausfiel, wurde eine Farbenskala geschaffen, indem man zu den einzelnen Röhrchen wechselnde Mengen der Natriumsulfidlösung zugab, deren Volumen sich von Fall zu Fall um 0,05 oder 0,0275 ccm unterschied; in diese Röhrchen wurden dann je 11 ccm der vom Schwefelwasserstoff befreiten Vergleichslösung gebracht, sodass in beiden Fällen, sowohl bei den Albuminlösungen als auch bei den Vergleichslösungen dieselbe Menge von ungelösten und zugesetzten Bestandteilen zugegen war. War nun das die Eiweisslösung enthaltende Röhrchen nicht mit einer Vergleichprobe ganz farbengleich, sondern z. B. heller als ein Vergleichsröhrchen, das 0,5 ccm Na_2S-Lösung enthielt, aber dunkler als ein Röhrchen, das 0.45 ccm der Natriumsulfidlösung enthielt, so wurde hier die Mittelzahl 0,525 für die Berechnung des Schwefelgehaltes angenommen.

Die beim Zusatz der Eiweisslösungen zu den stark sauren Reagentien und ebenso beim Durchleiten der Luft in den sauren Lösungen auftretenden Fällungen der nicht hydrolysierten Eiweissubstanzen, setzten sich meistens bald zu Boden. War dies bei den einzelnen Reaktionen nicht der Fall, so liess sich dieser Uebelstand durch Schleudern der Röhrchen in der Zentrifuge sehr leicht beseitigen, so dass schön klare oder doch gut vergleichbare Lösungen erhalten wurden. Aus der in der obigen Weise beschriebenen Farbenskala, war dann das mit den Eiweisslösungen gleich gefärbte Vergleichsröhrchen leicht herauszufinden.

Im Folgenden sei ein Beispiel zur Berechnung des lose gebundenen Schwefels, der in den einzelnen Versuchen in % des Stickstoffs angegeben wird, angeführt.

Beispiel.

Röhrchen Nr. 5 ist farbengleich mit den Albuminlösungen und enthält 0,4 ccm der Natriumsulfidlösung. Nach der jodometrischen Bestimmung der Na_2S-Lösung entspricht 1 ccm 0,140 mg Schwefel. Infolgedessen sind in 10 ccm der mit diesem Röhrchen farbengleichen Albuminlösung 0,4 mal 0,140 mg Schwefel = 0,0560 mg Schwefel enthalten. In 10 ccm der Albuminlösung sind enthalten 0,00224 g Stickstoff. Also berechnet sich der Schwefel in % des Stickstoffs folgendermassen:

5,60 mg S : 2,24 mg N = 2,50 % Schwefel.

III. Versuche zur quantitativen Bestimmung des abspaltbaren Schwefels in den Proteinkörpern mit p-Amidodimethylanilin.

Nachdem bei den vorhergehenden Versuchen eine Vergleichslösung geschaffen war, die mit den Eiweisskörperlösungen gleiche Farbtönung aufwies, ausserdem genau dieselben gelösten Bestandteile und dieselbe Konzentration der Lösung besass, wurden so die verschiedensten Proteine nach dieser Methode auf ihren Gehalt an abspaltbarem Schwefel untersucht. Zuerst wurden Versuche mit dem am leichtesten zugänglichen, käuflichen getrockneten Eieralbumin angestellt.

1. Eiereiweiss, getrocknet und frisch, koaguliertes Eiweiss und Eidotter.

Eiereiweiss, getrocknet.

0,2 g Eiereiweiss (Albumen ovi siccum) wurden in 100 ccm 1%iger Natronlauge im Erlenmeyerkolben unter öfterem Umschütteln 1 Stunde im Wasserbade gekocht. Der Stickstoffgehalt der Lösung wurde zu 0,263% ermittelt. Beispielsweise sei hier nochmals die Arbeitsweise genau beschrieben.

Zweimal 10 ccm der so gekochten Eiweisslösung wurden in die schon beschriebenen Röhrchen gebracht, die 1 ccm Salzsäure, 1 ccm 0,5%ige p-Amidodimethyanilinlösung und ein ccm der 5%igen Eisenchloridlösung enthielten. Nach dem Eintragen der Eiweisslösung wurde umgeschüttelt und in dem verschlossenen Röhrchen stehen lassen. In zweimal 10 ccm wurde der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt, die restlichen 60 ccm der Eiweisslösung wurden mit 6 ccm Salzsäure versetzt und bis zur vollkommenen Entfernung des Schwefelwasserstoffs an der Wasserstrahlpumpe Luft durchgeleitet. Dann wurden in die für die Farbenskala aufgestellten Röhrchen, die schon 1 ccm des Reagenzes und 0,5 ccm Eisenchloridlösung enthielten, wechselnde Mengen von Natriumsulfidlösung vermittels einer graduierten Pipette eingetragen und dann je 11 ccm der vorbereiteten Vergleichslösung eingetragen. Die Schwefelwasserstofflösung war vorher jodometrisch auf ihren Gehalt bestimmt worden. Nach 20–25 minutigem Stehen wurden die Lösungen verglichen und der Schwefelgehalt der Eiweisslösung aus dem Schwefelgehalte des farbengleichen Vergleichsröhrchens unter Berücksichtigung des Stickstoffgehaltes rechnerisch ermittelt.

Schwefel in 10 ccm	Stickstoff in 10 ccm	Schwefel in % des Stickstoff
0,0608 mg S	0,002385 g N	2,55 % S
0,0608 mg S	0,002385 g N	2,55 % S
0,0603 mg S	0,002380 g N	2,53 % S

Im Mittel gefunden: rund 2,55% Schwefel für Albumin.

Frisches Eieralbumin.

Frisches Hühnereiweiss in Mengen von je 6 g wurde in 100 ccm 1%iger Natronlauge 1 Stunde gekocht.

Schwefel in % des Stickstoffs.

2,85 % 2,74 % 2,79 % 2,77%

Im Mittel: 2,79 % Schwefel in % des Stickstoffs.

Koaguliertes Eiweiss.

Teile eines gekochten Eies wurden in 100 ccm 1%iger Natronlauge 1 Stunde gekocht.

Schwefel in % des Stickstoffs für koaguliertes Eiweiss.

2,84 % S 2,81 % S 2,78 % S

Im Mittel: 2,8 % Schwefel in % des Stickstoffs.

Die vorhergehenden Versuche zeigen sowohl für frisches Eiweiss als auch für koaguliertes Eiweiss höhere Werte als für das trockene Eiweiss. Es scheint also bei der Herstellung des Trockeneiweisses resp. bei dessen Aufbewahrung irgend eine Veränderung des Eiweisskörpers vor sich gegangen zu sein, woraus die wesentlich niedrigeren Werte zu erklären sind.

Eidotter.

Aus vier frischen Eiern wurde der Eidotter bis zur festen Konsistenz auf dem Wasserbade eingetrocknet und im Soxhlet bis zur Entfernung des Farbstoffs und des Fettes extrahiert und im Dampftrockenschrank getrocknet. Von der so erhaltenen Trockenmasse wurden je 0,2 g in 100 ccm 1%iger Natronlauge gekocht. Stickstoffgehalt in der Lösung 0,199 %.

Schwefel in % des Stickstoffs.

2,07 % S 1,99 % S 2,11 % S

Im Mittel rund 2,00 % Schwefel.

2. Alkohollösliche Proteine der Cerealien.

Weizen.

5 g Weizenmehl wurden in 100 ccm 1%iger Natronlauge gekocht, wobei sich sowohl eine tiefbraune Färbung der Lösung als auch eine Verkleisterung des Ganzen bemerkbar machte. Versuche, die Lösung vom Ungelösten abzusaugen, als auch das Ungelöste durch Schleudern in der Zentrifuge zum Absitzen zu bringen, führten zu keinem Ergebnis. Auch bei geringeren Mehlkonzentrationen, die 2 bezw. 1 g Mehl auf 100 ccm des Lösungsmittels trat in keiner Weise eine Besserung ein.

Nach einem Verfahren von Mannich[1]), der die Stärke im Mehl mit 66 % iger Calziumchloridlösung entfernt, wurden Versuche angestellt, die zwar für die Herstellung von zu polarisierenden Stärkelösungen gut zu verwenden sind, aber für unsere Zwecke unbrauchbar waren, da uns hauptsächlich daran lag, stärkefreies Protein zu gewinnen. Da aber hierfür grössere Mehlmengen benötigt wurden, war eine Filtration dieser Lösungen nur sehr schwer auszuführen. Weil also die Beseitigung der Stärke Schwierigkeiten bereitete, die nicht abzustellen waren, wurden zuerst Versuche angestellt, das Mehl mit alkoholischer Natronlauge in der Kälte auszuziehen, wozu eine 1%ige Natronlauge mit 70%igem Alkoholgehalt verwandt wurde.

10 g Mehl wurden mit 100 ccm dieser alkoholischen Natronlauge mehrere Stunden im Schüttelapparat geschüttelt, absitzen lassen und dann auf der Nutsche die Lösung vom Ungelösten abgesaugt oder der Mehlrückstand in der Zentrifuge abgeschleudert und die über-

1) Mannich Z. U. N. 1920, S. 1.

stehende Flüssigkeit abgegossen. Wenn nach dem ersteren Verfahren, bei dem das Lösungsmittel mit der Nutsche abgesaugt wurde, gearbeitet war, wurde der Rückstand noch mit 70%igem Alkohol gut ausgewaschen. Da schon bei Versuchen mit Albuminlösungen festgestellt worden war, dass ein Zusatz von Alkohol zu der Lösung reduzierend resp. hindernd auf die Bildung der Farbreaktion einwirkt, wurde vor dem Kochen der Lösung im Wasserbade solange erhitzt, bis der grösste Teil des Alkohols abdestilliert war und dann die noch übriggebliebenen geringen Alkoholmengen verdampft. Dann wurde mit ausgekochtem destilliertem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt und im Wasserbade 1 Stunde gekocht. Nach dem Erkalten der Lösung wurde in 3 mal 10 ccm der Schwefelgehalt ermittelt. In 2 mal 10 ccm derselben Lösung war der Stickstoffgehalt nach K j e l d a h l ermittelt worden und zu 1,4 % gefunden, der Gesamtstickstoffgehalt des Mehls war vorher zu 1,91 % gefunden worden.

In 10 ccm der Lösung waren enthalten:

0,1321 mg Schwefel – 0,014 g Stickstoff = 0,943 % S in % N.

Weitere Versuche, die in derselben Weise und unter denselben Versuchsbedingungen angestellt wurden, zeigen stark differente Werte. Es wurde festgestellt, dass bei längerem Einwirkenlassen der alkoholischen Natronlauge auf das Mehl viel niedrigere Werte als oben gefunden wurden, bei längerem Stehen dieser Lösungen wurde eine konstante Abnahme der Schwefelwerte beobachtet, die unten tabellarisch wiedergegeben wird.

Ergebnisse der einzelnen Versuche. In den Auszügen aus Weizenmehl wurde gefunden bei den einzelnen Versuchen:

Nach 2stündig. Einwirkenlassen d.alk.NaOH 1,41 % S in % des Stickst.
„ 4stündig. Einwirkenlassen d.alk.NaOH 1,32 % S in % des Stickst.
„ 6stündig. Einwirkenlassen d.alk.NaOH 1,21 % S in % des Stickst.
„ 10stündig. Einwirkenlassen d.alk.NaOH 0,920 % S in % des Stickst.
„ 18stündig. Einwirkenlassen d.alk.NaOH 0,73 % S in % des Stickst.
„ 24stündig. Einwirkenlassen d.alk.NaOH 0,61 % S in % des Stickst.
„ 48stündig. Einwirkenlassen d.alk.NaOH 0,32 % S in % des Stickst.
Nach 72stündigem Einwirkenlassen nur noch Spuren v. Schwefel

Vorstehende Versuche, die auch beim Stehenlassen von Albuminlösungen in wässeriger Natronlauge bestätigt wurden, deuten darauf hin, dass eine Abspaltung des Schwefels unter gleichzeitiger Oxydation desselben in der Kälte vor sich gehen muss. Anderseits wurde aber auch bei Versuchen, in denen das Mehl gleich lange Zeit mit alkoholischer Natronlauge behandelt wurde, kein übereinstimmendes Ergebnis erzielt, was wohl darauf zurückzuführen ist, dass bei der Entfernung des Alkohols durch das Erhitzen der alkoholischen Natronlauge schon merkliche Mengen des Schwefels im Eiweisskörper abgespalten werden, die dann durch den nachträglichen Wasserzusatz ganz oder teilweise oxydiert werden. Hieraus erklärt sich auch, dass die Ergebnisse vollkommen verändert gefunden wurden.

Durch weitere Versuche wurde dann gezeigt, dass beim Abdampfen des Alkohols aus der alkalischen Lösung der Eiweisskörper schon teilweise abgebaut war, sodass schon Natriumsulfid in der Lösung nachgewiesen werden konnte. Zur genaueren Untersuchung der Veränderungen, die beim Abdampfen der Lösung vor sich gehen müssen, wurden dann 40 g Mehl in 200 ccm 1%iger alkoholischer

Natronlauge 2 Stunden geschüttelt, das Filtrat vom Rückstande abgesaugt, auf 200 ccm aufgefüllt und je 50 ccm dieser Lösung, die je 10 g Mehl entsprachen, nach den verschiedensten Methoden behandelt. Vorher waren alle 4 Proben mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt worden.

In Lösung I wurde wie früher in der alkalischen Lösung der Alkohol verdampft, während zu Lösung II 1 g metallisches Aluminium, zur Lösung III 1 g met. Zink gegeben wurde. Lösung IV wurde mit Salzsäure gegen Lakmus neutralisiert und dann der Alkohol in allen vier Fällen verdampft. In die Kölbchen I, II und III wurden 100 ccm Wasser gegeben, während in IV, das ja vorher neutralisiert worden war, 100 ccm 1%ige Natronlauge gebracht wurden. Dann wurden alle 4 Proben, nachdem das Zink und das Aluminium aus den Lösungen entfernt war, 1 Stunde gekocht und die üblichen Versuche angestellt, wobei der Schwefel gefunden wurde: bei

I Alkohol in alkal. Lösung verdampft 0,972 % Schwefel
II Alkohol in Gegenwart von Al. verdampft 1,21 % Schwefel
III Alkohol in Gegenwart von Zink verdampft 1,25 % Schwefel
IV Alkohol in neutr. Lösung verdampft 1,56 % Schwefel

Während beim Abdampfen in alkalischer Lösung die niedrigsten Werte gefunden wurden, lagen die Verhältnisse bei den mit Aluminium und Zink behandelten Lösungen in der Mitte zwischen den in alkalischer und neutraler Lösung abgedampften Proben, wodurch bewiesen wird, dass beim Abdampfen des Alkohols in alkalischer Lösung schon Natriumsulfid abgespalten wird, das dann entweder beim Kochen der Lösung oder durch den nach dem Abdampfen der Lösung bedingten Wasserzusatz oxydiert oder verändert wird. In dieser Richtung konnten genaue Resultate nicht erzielt werden. Es wurde dann zur Untersuchung der alkohollöslichen Proteine der Cerealien geschritten.

ALKOHOLLÖSLICHE PROTEINE.

Weizen.

2 mal 10 g Weizenmehl wurden mit 100 ccm 75 prozentigem Alkohol vier Stunden im Schüttelapparat geschüttelt, die Lösung von dem Ungelösten auf der Nutsche abgesaugt, der Alkohol aus der erhaltenen Flüssigkeit abdestilliert und bis zur gänzlichen Entfernung des Alkohols die einzelnen Kölbchen auf dem Wasserdampfbad bis fast zur Trockene eingedampft. Das so erhaltene Protein wurde mit je 100 ccm 1 prozentiger Natronlauge 1 Stunde im Wasserbade gekocht und mit je 10 ccm dieser Lösung die übliche Reaktion auf Schwefel angestellt. In einem Teil der Lösung war der Stickstoff bestimmt worden, der zu 0,981 % gefunden wurde.

Bei Ausführung der Reaktion zeigte sich dann, dass die hier erhaltene Blaufärbung eine solche Stärke aufwies, dass Nuancen in der Farbstärke nicht mehr beobachtet werden konnten, weshalb für weitere Versuche nur noch je 5 g des Weizenmehles ausgezogen wurden.

Mehrere Proben zu je 5 g Weizenmehl wurden nun ebenso mit 50 ccm 75 prozentigen Alkohol ausgezogen und in der erhaltenen Lösung nach Abdampfen des Alkohols und Kochen mit Natronlauge der Stickstoff- und Schwefelgehalt ermittelt.

In 10 ccm der NaOH-Lösung 0,0042 g N = 0,127 mg S = 3,02 % S
0,0047 g N = 0,136 mg S = 2,89 % S
0,0049 g N = 0,139 mg S = 2,9 % S
0,0051 g N = 0,157 mg S = 3,08 % S

Da bei den hier angegebenen Versuchen die Schwefelwerte erheblich höher liegen als bei den in alkoholischer Natronlauge bereiteten Lösungen und ausserdem hier konstante Werte erhalten werden, muss also in den mit alkoholischer Natronlauge ausgezogenen Mehlproteinen unbedingt eine Veränderung resp. Oxydation des Schwefels vorliegen, zumal hier erheblich höhere Schwefelwerte gefunden wurden, während doch der Gehalt an Stickstoffsubstanz bei den alkoholischen Auszügen erheblich kleiner ist.

Löslichkeitsverhältnisse einiger Lösungsmittel.

In den mit 75prozentigem Alkohol ausgezogenen Mehlauszügen war in den bis jetzt gemachten Versuchen eine gute Uebereinstimmung gefunden worden, sodass nunmehr noch Versuche über die Löslichkeit des Proteins bei verschiedenen Alkoholkonzentrationen angestellt wurden, um festzustellen, ob bei Veränderung der Alkoholkonzentrationsverhältnisse auch für den Schwefel dieselben Werte gefunden würden.

Zu diesem Zwecke wurden erst zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes in den einzelnen Mehlen mehrere Proben von je 10 g Mehl mit verschiedenen Lösungsmitteln ausgezogen. In allen Fällen wurde das Mehl mit den Lösungsmitteln 2 Stunden geschüttelt, dann abgesaugt und in der Lösung der Stickstoff bestimmt. Es wurde ausgezogen an Stickstoff bei den einzelnen Versuchen :

mit 95 %	mit 75 %	mit 60 %	mit 50 %	mit 40 %	mit H_2O	Alkohol
0,110 %	0,71 %	0,849 %	0,925 %	0,785 %	0,175 %	
0,113 %	0,73 %	0,837 %	0,932 %	0,757 %	0,169 %	

Es wurde also gefunden, dass bei 95 prozentigem Alkohol, sowie bei Wasser sehr geringe Mengen des Proteins ausgezogen wurden, ferner, dass bei Anwendung von 75, 60 und 50prozentigem Alkohol die grösste Menge des Proteins ausgezogen wurde, während bei niedrigeren wie 40prozentigen Alkoholkonzentrationen die Mengenverhältnisse des gelösten Proteins kleiner werden und ungefähr gleiche Werte mit den Auszügen des 75 prozentigen Alkohols lieferten.

Die bei den Schwefelbestimmungen ermittelten Werte sind für 60, 70 und 75 prozentige alkoholische Auszüge in untenstehender Tabelle genau angeführt. Von den Auszügen mit 50 und 40 prozentigem Alkohol wurde weiter kein Gebrauch gemacht, da die hiermit erhaltenen Lösungen schon sehr schlecht filtrierbar und stark getrübt waren.

Es wurde nun noch eine ganze Reihe von Versuchen mit Weizenmehlen angestellt, die aus den verschiedensten Verkaufsstellen besorgt worden waren und infolgedessen in ihrem Proteingehalt grössere Schwankungen aufwiesen. Ausserdem wurde bei diesen Versuchen sowohl die Konzentration des zum Ausziehen verwandten Alkohols als auch die Dauer des Ausziehens variiert. Bei allen diesen Versuchen wurden je 5 g des Mehles mit 50 ccm Alkohol ausgezogen,

nach dem Absaugen der alkoholischen Flüssigkeit der Rückstand mit Alkohol gut ausgewaschen, wie üblich weiterverfahren und der Schwefelgehalt in den einzelnen Proben ermittelt. Die erhaltenen Schwefelwerte nebst Angabe der Versuchsbedingungen sind in nachstehender Tabelle angeführt:

Aufstellung einer Reihe von Versuchen mit Weizenmehl der verschiedensten Herkunft.

Konzentration des zum Ausziehen benutzten Alkohols	Dauer des Ausziehens	mg Stickstoff in 10 ccm der Proteinlösung	mg Schwefel in 10 ccm Vergleichslösung	Schwefel in % des Mehles	Schwefel in % des Stickstoffs
60 %	2 Std.	4,15 mg	0,129 mg	0,028 %	3,10 % S
60 %	2 Std.	5,02 mg	0,1577 mg	0,030 %	3,02 % S
60 %	2 Std.	5,02 mg	0,1520 mg	0,030 %	3,04 % S
60 %	2 Std.	4,60 mg	0,1450 mg	0,029 %	3,15 % S
60 %	12 Std.	5,027 mg	0,1645 mg	0,033 %	3,27 % S
60 %	12 Std.	5,75 mg	0,1780 mg	0,0365 %	3,09 % S
60 %	8 Std.	5,71 mg	0,1720 mg	0,0340 %	2,99 % S
60 %	8 Std.	5,73 mg	0,1750 mg	0,0350 %	3,05 % S
70 %	2 Std.	4,87 mg	0,1446 mg	0,0290 %	2,94 % S
70 %	2 Std.	4,70 mg	0,1388 mg	0,0277 %	3,17 % S
70 %	2 Std.	4,86 mg	0,1446 mg	0,0289 %	2,98 % S
70 %	3 Std.	4,92 mg	0,1475 mg	0,0346 %	2,99 % S
70 %	2 Std.	4,91 mg	0,1470 mg	0,0338 %	3,07 % S
70 %	2 Std.	5,62 mg	0,1730 mg	0,0346 %	3,08 % S
70 %	3 Std.	5,61 mg	0,1720 mg	0,0334 %	3,07 % S
75 %	2 Std.	4,00 mg	0,1302 mg	0,0260 %	3,25 % S
75 %	2 Std.	4,00 mg	0,1290 mg	0,0258 %	3,22 % S
75 %	6 Std.	5,47 mg	0,1620 mg	0,0324 %	2,97 % S
75 %	6 Std.	5,04 mg	0,1590 mg	0,0318 %	3,15 % S

Im Mittel gefunden: Schwefel in % des Stickstoffs 3,05 %

Wie wir aus den in vorliegender Tabelle angeführten Werten ersehen, wird der Schwefelgehalt des alkohollöslichen Proteins auch bei Veränderung der Konzentration des zum Ausziehen benutzten Alkohols sowie bei kürzerer oder längerer Dauer des Ausziehens als auch bei Veränderung der Menge des auszuziehendes Mehles nicht verändert. Auch Mehle verschiedenster Herkunft mit den verschiedensten Proteingehalten zeigten dieselbe prozentuale Zusammensetzung des abspaltbaren Schwefels in Gliadin.

Roggenmehle.

Eine Menge von Proben verschiedener Roggenmehle von 5 bezw. 10 g wurden in 50 resp. 100 ccm Alkohol verschiedenster Konzentration verschieden lange ausgezogen und wie beim Weizen in dem erhaltenen Protein der Schwefel ermittelt. Die einzelnen Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in nachstehender Tabelle angeführt.

Aufstellung einer Reihe von Versuchen mit Roggenmehl der verschiedensten Herkunft.

Konzentration des zum Ausziehen benutzten Alkohols	Dauer des Ausziehens	mg Stickstoff in 10 ccm der Proteinlösung	mg Schwefel in 10 ccm Vergleichslösung	Schwefel in % des Mehles	Schwefel in % des Stickstoffs
60 %	2 Std.	2,88 mg	0,1013 mg	0,0202 %	3,51 % S
60 %	6 Std.	4,37 mg	0,150 mg	0,030 %	3,42 % S
60 %	6 Std.	4,20 mg	0,148 mg	0,0296 %	3,52 % S
70 %	2 Std.	2,70 mg	0,096 mg	0,0192 %	3,55 % S
70 %	6 Std.	3,35 mg	0,135 mg	0,027 %	3,50 % S
75 %	2 Std.	2,65 mg	0,093 mg	0,0186 %	3,50 % S
75 %	6 Std.	3,75 mg	0,125 mg	0,025 %	3,50 % S

Im Mittel gefunden: Schwefel in % des Stickstoffs 3,53 % für Roggengliadin.

Es zeigte sich, dass auch bei der Untersuchung des Roggengliadins auf den Schwefelgehalt ebenso wie beim Weizen bei Veränderung der Konzentration des zum Ausziehen benutzten Alkohols und bei den verschiedensten Mehlsorten keine Veränderung gefunden wurde. Durch die vorstehenden Versuche, bei denen im alkohollöslichen Protein des Weizens der abspaltbare Schwefel zu 3,05 % gefunden wurde, während der Schwefel im Protein des Roggens zu 3,53 % gefunden wurde, wird also entgegen den neuesten Behauptungen verschiedener Forscher ein Beweis gebracht, dass die alkohollöslichen Proteine des Weizens und des Roggens verschiedener Zusammensetzung und keineswegs identische Körper sind.

Selbstgeschrotete Mehle.

Weizenschrot.

Mehrere Proben von je 50 g Weizen verschiedenster Herkunft wurden in einer Handmühle möglichst fein gemahlen und mehrere Proben zu 5 und 10 g des so erhaltenen Schrotes in 50 bezw. 100 ccm Alkohol verschiedenster Konzentration verschieden lange ausgezogen. Das erhaltene Protein wurde wie üblich weiterbehandelt und in der Lösung der abspaltbare Schwefel bestimmt. Ergebnisse der einzelnen Versuche sind in nachstehender Tabelle angegeben:

Konzentration des zum Ausziehen benutzten Alkohols	Dauer des Ausziehens	mg N in 10 ccm	mg Stickstoff in 10 ccm der Proteinlösung	Schwefel in % des Schrotes	Schwefel in % des Stickstoffs
60 %	2 Std.	2,88 mg	0,1013 mg	0,0202 %	3,51 % S
60 %	4 Std.	4,085 mg	0,122 mg	0,0204 %	3,34 % S
60 %	6 Std.	4,40 mg	0,132 mg	0,0220 %	3,33 % S
70 %	2 Std.	3,75 mg	0,1270 mg	0,0254 %	3,36 % S
70 %	4 Std.	4,60 mg	0,155 mg	0,0310 %	3,35 % S
70 %	6 Std.	4,90 mg	0,165 mg	0,0330 %	3,36 % S
75 %	2 Std.	3,75 mg	0,1270 mg	0,0254 %	3,36 % S
75 %	4 Std.	4,20 mg	0,1420 mg	0,0280 %	3,38 % S
75 %	6 Std.	4,37 mg	0,132 mg	0,0264 %	3,27 % S

Im Mittel gefunden für Protein des Weizenschrotes 3,33 % S in % N.

Es zeigte sich also, dass bei selbstgemahlenem Weizenmehl, in dem die Schalenteile mitvermahlen waren, der Schwefelgehalt höhere Werte lieferte als die bisher untersuchten reinen Weizenmehle, was wohl auf die verschiedene Zusammensetzung der Proteine des Keimlings und der Schale gegenüber dem Proteingehalt reinen Mehles zurückzuführen ist.

Roggenschrot.

Mehrere Roggenproben wurden auf der Handmühle gemahlen und in je 5 bezw. 10 g des erhaltenen Schrotes das Protein mit Alkohol verschiedener Konzentration wie bei Weizenschrot ausgezogen und weiter behandelt.

Konzentration des Alkohols	Dauer des Ausziehens	mg Stickstoff in 10 ccm der Vergleichslösung	S in % des Schrotes	S in % des Stickstoffs	mg N in 10 ccm
60 %	2 Std.	0,2129 mg	0,0212 %	3,72 % S	5,646 mg
60 %	2 Std.	0,220 mg	0,022 %	3,92 % S	5,590 mg
60 %	2 Std.	0,226 mg	0,0226 %	3,74 % S	6,03 mg
60 %	4 Std.	0,234 mg	0,0234 %	3,71 % S	6,03 mg
60 %	6 Std.	0,125 mg	0,0250 %	3,86 % S	6,48 mg
60 %	3 Std.	0,122 mg	0,0244 %	3,68 % S	6,64 mg
60 %	3 Std.	0,1218 mg	0,0240 %	3,7 % S	6,59 mg
60 %	3 Std.	0,1227 mg	0,0245 %	3,72 % S	6,60 mg
70 %	2 Std.	0,202 mg	0,0202 %	3,74 % S	5,40 mg
70 %	2 Std.	0,198 mg	0,0198 %	3,68 % S	5,38 mg
75 %	2 Std.	0,178 mg	0,0178 %	3,71 % S	4,80 mg
75 %	4 Std.	0,186 mg	0,0186 %	3,75 % S	4,96 mg

Im Mittel gefunden beim alkohollöslichen Protein aus Roggenschrot 3,74 % Schwefel in % des Stickstoffs.

Es zeigte sich also auch hier ein höherer Gehalt des abspaltbaren Schwefels als bei dem Protein des reinen Roggenmehles.

Weitere Versuche wurden nun mit verschiedenen Proben von Maismehl vorgenommen.

Mais.

Verschiedene Maisproben wurden selbst geschrotet und je 10 g des so erhaltenen Mehles mit je 100 ccm 80 resp. 90%igen Alkohols unter Umschütteln ausgezogen. Der Alkohol wurde wie üblich aus der Lösung entfernt, das Protein in 1%iger Natronlauge gekocht und wie bei den früheren Versuchen weiter verfahren.

Konzentration des Alkohols	Dauer des Ausziehens	mg Stickstoff in 10 ccm der Vergleichslösung	mg Schwefel in 10 ccm	Schwefel in % des Stickstoffs
80 %	2 Std.	3,006 mg	0,0379 mg S	1,26 % S
80 %	2 Std.	3,53 mg	0,0426 mg S	1,21 % S
80 %	2 Std.	3,54 mg	0,0427 mg S	1,21 % S
90 %	6 Std.	4,427 mg	0,0534 mg S	1,20 % S
90 %	6 Std.	4,335 mg	0,053 mg S	1,22 % S
90 %	6 Std.	4,127 mg	0,0520 mg S	1,23 % S

Im Mittel gefunden für alkohollösliches Maisprotein 1,22 % S in % des Stickstoffs.

Wie die vorliegenden Versuche ergeben, enthält das Mehl des Maises erheblich weniger abspaltbaren Schwefel als das Weizen- und Roggenmehl, sodass mit Maismehl angestellte Verfälschungen des Weizenmehles nach unserer Methode leicht festgestellt werden können. Man müsste zu diesem Zwecke das Mischmehl mit Alkohol zu erschöpfen suchen und das so erhaltene Protein nach vorliegendem Verfahren untersuchen, wobei ein unter 2,8% liegender Gehalt an abspaltbarem Schwefel die Anwesenheit von Maismehl bestätigen würde, vorausgesetzt, dass andere Mehle in der Mischung nicht enthalten sind. Von einer quantitativen Ausgestaltung der Methode wurde abgesehen, weil im hiesigen Institut für denselben Zweck eine erheblich einfachere Methode zur Zeit ausgearbeitet wird.

Gerstenmehl.

Verschiedene Proben von Gerste wurden in der Handmühle gemahlen und je 10 g des erhaltenen Mehles mit 70%igem Alkohol ausgezogen, in der Zentrifuge abgeschleudert und nach Abgiessen der Lösung der Alkohol verdampft und das Protein zur Untersuchung auf den Schwefel wie früher weiter behandelt.

mg Schwefel in 10 ccm der Vergleichslösung	mg Stickstoff in 10 ccm	Schwefel in % des Stickstoffs
0,057 %	2,646 mg	2,15 %
0,0522 %	2,33 mg	2,12 %
0,067 %	3,33 mg	2,12 %
0,0686 %	3,05 mg	2,25 %
0,0714 %	3,13 mg	2,27 %
0,0634 %	2,96 mg	2,14 %
0,0738 %	3,305 mg	2,23 %

Im Mittel gefunden für alkohollösliches Protein der Gerste 2,18 % Schwefel in % des Stickstoffs.

Es wurden also hier Werte gefunden, die im Mittel zwischen den bei Weizen und Mais gefundenen Werten lagen.

Hafer.

Mehrere Proben Hafer wurden selbst geschrotet und je 10 g mit 70%igem Alkohol ausgezogen, der Alkohol wie üblich entfernt und das Protein mit Natronlauge gekocht. Bei Versuchen, den Schwefelgehalt mit Vergleichslösungen zu bestimmen, wurde eine zu dunkle Blaufärbung der Haferlösung beobachtet und infolgedessen bei weiteren Versuchen nur noch je 5 g des Schrotes mit Alkohol ausgezogen.

Dauer des Ausziehens	mg Schwefel in 10 ccm Vergleichslösung	mg Stickstoff in 10 ccm Proteinlösung	Schwefel in % des Stickstoffs
12 Std.	0,1145 mg	1,566 mg N	7,31 % S
12 Std.	0,1019 mg	1,448 mg N	7,03 % S
12 Std.	0,1228 mg	1,683 mg N	7,29 % S
12 Std.	0,1094 mg	1,507 mg N	7,26 % S
12 Std.	0,1051 mg	1,354 mg N	7,59 % S

Im Mittel gefunden für alkohollösliches Protein des Hafers in % des Stickstoffs 7,21 % Schwefel.

Haferflocken.

Sodann wurden verschiedene Proben von je 10 g Haferflocken, die von den Mühlenwerken Elmshorn geliefert waren, fein vermahlen und mit 70 prozentigem Alkohol ausgezogen. Es wurde dann in der üblichen Weise weiter gearbeitet und der abspaltbare Schwefel gefunden :

Dauer des Ausziehens	Schwefel in 10 ccm	Stickstoff in 10 ccm	Schwefel in % des Stickstoffs
12 Std.	0,0898 mg	3,399 mg	2,64 % S
12 Std.	0,0898 mg	3,32 mg	2,70 % S
12 Std.	0,0863 mg	3,276 mg	2,63 % S
12 Std.	0,0863 mg	3,255 mg	2,65 % S
12 Std.	0,0862 mg	3,254 mg	2,65 % S

Im Mittel gefunden im alkohollöslichen Protein aus Haferflocken 2,65 % abspaltbaren Schwefel in % des Stickstoffs.

Die soeben untersuchten Haferflocken waren rein von Spelzen und Schalenteilen und von der Firma als hochgradig aufgeschlossen bezeichnet. Es muss also hier, da doch für Haferprotein im Mittel 7,21% Schwefel gefunden war, in den Haferflocken irgend eine Veränderung bei der Darstellung, die wahrscheinlich auf Oxydation des Schwefels beruht, vor sich gegangen sein.

Reis.

Verschiedene Proben feingemahlenen Reises wurde mit je 50 ccm 60, 70 und 80%igem Alkohol 5 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt, die Lösung abfiltriert und das Protein wie üblich in 1%iger Natronlauge gekocht. Bei Versuchen, den Schwefelgehalt wie üblich zu ermitteln, wurde gefunden, dass bei sämtlichen Alkoholkonzentrationen so wenig Stickstoffsubstanz in Lösung gegangen war, dass kaum eine Färbung in den Lösungen durch die zugefügten Reagenzien erhalten wurde. Es wurden also nunmehr grössere Mengen des Reismehles mit Alkohol ausgezogen. 150 g Reispulver wurden mit 60%igem Alkohol 12 Stunden lang geschüttelt und nach Absaugen der Lösung der Alkohol verdampft und das erhaltene Protein wie üblich auf Schwefel untersucht.

In 10 ccm der Proteinlösung = 0,035 mg S, in 10 ccm der Vergleichlösung = 1,65 mg N. Schwefel in % des Stickstoffs im alkohollöslichen Reisprotein gefunden 2,12% Schwefel.

Wegen der Schwerlöslichkeit des Reisproteins bei den verschiedensten Alkoholkonzentrationen wurden weitere Versuche mit Reismehl in dieser Weise nicht mehr ausgeführt.

3. Salzlösliche Proteine der Cerealien.

Zur Bestimmung des abspaltbaren Schwefelgehaltes der salzlöslichen Proteine der Cerealien wurden die einzelnen Mehle mit 10%iger Kochsalzlösung je 6 Stunden geschüttelt und dann mehrere Tage bis zum Absitzen des Ungelösten stehen lassen, was ganz besonders

schwierig bei Roggenmehl war. Weizen, Gerste, Hafer und Mais setzen sich bei der Behandlung nach ca. 2tägigem Stehen gut ab, sodass eine schöne, klare überstehende Flüssigkeit, die das Protein gelöst hielt, vermittels Pipette abgehoben werden konnte. Bei den Roggenauszügen musste das Gemisch noch reichlich mit Wasser verdünnt werden, um ein Absitzen des Ungelösten, bezw. eine Klärung der überstehenden Flüsigkeit zu erreichen. Versuche, die Lösungen durch direkten Zusatz von NaOH zu kochen und dann die gekochte Lösung direkt zur Bestimmung des Schwefels zu verwenden, konnten nicht ausgeführt werden, da durch die Salzlösung grössere Mengen von Stärke mitgelöst waren, die beim Einbringen von NaOH starke Braunfärbung der Lösung beim Kochen hervorrief. Die mit den so erhaltenen braunen Lösungen angestellten Versuche verliefen erfolglos, da in den Lösungen mit den sonst benutzten Reagenzien keine Blaufärbung erzielt werden konnte. Es lag also hier offenbar eine Reduktion des sonst gebildeten Farbstoffes durch die mitgelösten Kohlenhydrate vor. Im weiteren wurden dann die Salzlösungen mit dem mehrfachen Volumen an Wasser verdünnt und unter Erwärmen auf 40 Grad der Eiweisskörper mit Essigsäure aus den Lösungen gefällt, in der Zentrifuge abgeschleudert, mit essigsäurehaltigem Wasser mehreremale dekantiert. Teile des erhaltenen Proteins wurden dann wie früher bei den alkoholl. Proteinen in 1prozentiger Natronlauge gekocht und abspaltbarer Schwefel in der üblichen Weise bestimmt. Sowohl bei Weizen als auch bei Roggen, Gerste, Hafer und Mais wurden je 50 g mit 200 ccm 10 prozentiger NaCl-Lösung ausgezogen und wie schon oben beschrieben in der üblichen Weise weiter verfahren.

Weizen.

50 g Weizenmehl mit 200 ccm 10%iger NaCl-Lösung ausgezogen. In dem durch Essigsäure gefällten Protein gefunden:

in 10 ccm	0,1532 mg S	=	6,1 mg N	=	S in % N	2,51 % S
	0,1821 mg S	=	7,44 mg N	=	S in % N	2,45 % S
	0,131 mg S	=	5,11 mg N	=	S in % N	2,56 % S

Im Mittel für salzlösliches Weizenprotein gefunden: 2,50% abspaltbarer Schwefel in % des Stickstoffs.

Roggen.

In 10 ccm	0,092 mg S	=	3,21 mg N	=	2,86 % S in % des N	
	0,084 mg S	=	2,98 mg N	=	2,81 % S in % des N	
	0,098 mg S	=	3,60 mg N	=	2,71 % S in % des N	

Im Mittel für salzlösliches Roggenprotein gefunden: 2,79% Schwefel.

Tabelle für Mais, Gerste, Hafer.

Mais:	In 10 ccm 0,0912 mg S	=	3,20 mg N	=	2,85 % S in % des N	
	In 10 ccm 0,0780 mg S	=	2,80 mg N	=	2,78 % S in % des N	
	In 10 ccm 0,0690 mg S	=	2,51 mg N	=	2,76 % S in % des N	

Im Mittel: 2,76 % S.

Gerste:	In 10 ccm 0,0753 mg S	=	8,52 mg N	=	0,884 % S in % des N
	In 10 ccm 0,0970 mg S	=	10,60 mg N	=	0,915 % S in % des N
	In 10 ccm 0,0870 mg S	=	9,21 mg N	=	0,945 % S in % des N
	Im Mittel : 0,914 % S.				
Hafer:	In 10 ccm 0,0912 mg S	=	3,21 mg N	=	2,85 % S in % des N
	In 10 ccm 0,0780 mg S	=	2,80 mg N	=	2,78 % S in % des N
	In 10 ccm 0,0690 mg S	=	2,51 mg N	=	2,76 % S in % des N
	Im Mittel : 2,80 % S.				

Bei obigen Versuchen wurde gefunden, dass die salzlöslichen Proteine des Weizens und des Roggens sich von den alkohollöslichen in ihrem Schwefelgehalte kaum unterscheiden, während bei Mais der gefundene Schwefelwert beim salzlöslichen Protein mehr als das doppelte, nämlich 2,76 % betrug, fielen die Schwefelwerte beim Protein der Gerste von 2,18% auf 0,914% und beim Haferprotein auf ca. ⅓ des im alkohollöslichen Protein gefundenen Gehaltes, nämlich von 7,21% auf 2,80% Schwefel in % des Stickstoffs.

4. Untersuchung der einzelnen Brotarten.

Weissbrötchen:

Von trockenen Brötchen wurde die Kruste entfernt, die Krume vermahlen und mit 70 % igem Alkohol 3 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt. Nach Absaugen der Lösung wurde wie üblich weiter verfahren und der Schwefelgehalt ermittelt.

Es wurde bei den einzelnen Versuchen gefunden: Schwefel in % des Stickstoffs 1,59, 1,61 und 1,63%. Im Mittel gefunden im alkoholl. Protein des Brötchens an abspaltbarem Schwefel 1,61% in % des Stickstoffs.

Roggenbrot.

In mehreren Versuchen wurden je 30 g getrocknetes Roggenbrot – die Kruste war vorher entfernt worden – mit 150 ccm Alkohol 3 Stunden geschüttelt, die Flüssigkeit abgesaugt und der Schwefelgehalt wie üblich ermittelt.

Es wurde bei den einzelnen Versuchen gefunden: Schwefel in % des Stickstoffs 0,796, 0,797 und 0,78%. Im Mittel gefunden im alkoholl. Protein des Roggenbrotes an abspaltbarem Schwefel 0,785% in % des Stickstoffs.

Maisbrötchen.

Mit feingemahlenem Maismehl bereitete Brötchen wurden wie Roggen- und Weizenbrot nach Entfernung der Kruste getrocknet und die erhaltene Krume vermahlen. Dann wurden 40 g der Substanz in 80%igem Alkohol 4 Stunden ausgezogen und wie üblich weiter verfahren.

Bei Versuchen, den Schwefelgehalt kolorimetrisch zu bestimmen, wurde festgestellt, dass in 10 ccm nur 1,4 mg Stickstoff gelöst war, sodass hiermit Farbenvergleiche nicht mehr vorgenommen werden konnten.

Die mit den einzelnen Brotarten in den vorliegenden Versuchen angeführten Werte liegen sämtlich weit unter den für die betreffenden Mehle gefundenen Schwefelzahlen. So wurde in Weizenbrötchen nur noch 1,61% des Schwefelgehaltes gefunden, während doch der Schwefelgehalt des Weizenmehles zu 3,05% gefunden war. Es war also hier offensichtlich eine durch den Backprozess verursachte Aenderung des Schwefelgehaltes in dem alkoholl. Proteinkörper eingetreten. Bei Roggenbrot wurden nur noch 0,785% Schwefel in % des Stickstoffs gefunden, während der Schwefelgehalt des Roggenmehles ungefähr in der fünffachen Menge zu 3,50% gefunden worden war. Es muss also hier, da die Werte sich noch weiter als bei Weizenmehl verschoben haben, neben der durch den Backprozess hervorgerufenen Veränderung resp. Oxydation des abspaltbaren Schwefels noch eine Einwirkung des Sauerteiges bei der Brotbereitung mitgewirkt haben. Der Proteinkörper des Maisbrotes war durch den Backprozess stark unlöslich geworden, sodass die ausgezogenen Proteinmengen für quantitative Bestimmung des Schwefels nicht mehr genügten.

5. Wasserteigwaren.

100 g Wasserteigwaren wurden fein gemahlen und je 10 g des so erhaltenen Mehles mit 70%igem Alkohol ausgezogen und in dem erhaltenen Protein der Schwefel bestimmt. Es wurde bei den einzelnen Versuchen gefunden: 2,95% S, 2,97% S, 3,01% S, 3,02% S, 2,90% S in % N. Im Mittel wurde also gefunden für alkoholl. Protein der Wasserteigwaren 2,97% Schwefel in % des Stickstoffs, sodass hier keine merkliche Veränderung des Schwefelgehaltes vor sich gegangen war.

6. Zersetzte Roggen- und Weizenmehle.

Zu diesem Zwecke wurden mehrere Proben von Roggen- und Weizenmehle, die schon einige Jahre in Gläsern aufbewahrt waren, untersucht. Sämtliche Mehle zeigten einen stark ranzigen und sticksigen Geruch, der besonders deutlich in der alkoholischen Lösung der Proteine bemerkbar war. Auch nach dem Abdampfen des Alkohols machte sich ein starker Geruch nach ranzigem Fett bemerkbar.

Roggen.

Von drei verschiedenen stark zersetzten Roggenmehlen wurden je 10 ccm mit 70%igem Alkohol mehrere Stunden geschüttelt und in dem erhaltenen Protein der Schwefel ermittelt. Es wurde gefunden:

In 5,64 mg N 0,219 mg S = 3,72 % Schwefel in % des N
4,73 mg N 0,171 mg S = 3,62 % Schwefel in % des N
4,20 mg N 0,157 mg S = 3,714 % Schwefel in % des N

Im Mittel gefunden für das Gliadin der zersetzten Roggenmehle 3,68% Schwefel in % N.

Weizen.

Stark zersetzte Weizenmehle wurden zu je 5 g mit 70 % igem Alkohol mehrere Stunden ausgezogen, mit dem so erhaltenen Proteinkörper wurden dann die üblichen Versuche angestellt. Es wurde gefunden:

In 4,06 mg N 0,120 mg S = 2,95 % S in % des N
4,83 mg N 0,145 mg S = 3,00 % S in % des N
5,03 mg N 0,159 mg S = 3,16 % S in % des N

Im Mittel gefunden Schwefel in % des N 3,03% für alkoholl. Protein zersetzter Weizenmehle.

Wie die vorliegenden Versuche ergeben, ist in den stark zersetzten Mehlen noch keine Veränderung des Schwefelgehaltes gegenüber frischen Mehlen festzustellen.

7. Untersuchung der Proteinkörper der verschiedenen Milchsorten.

a) Kaseine.

Kasein aus Kuhmilch.

500 ccm frische Kuhmilch wurden in der Zentrifuge durch Schleudern entfettet, dann mit dem vierfachen Volumen Wasser verdünnt und mit etwas Essigsäure versetzt. Das sich alsbald abscheidende Kasein wurde durch Leinwand filtriert, dann in einer Reibschale mit Wasser verrieben und öfters dekantiert, um allen Zucker zu entfernen. Dann wurde mit 96%igem Alkohol verrieben und öfters dekantiert, der Alkohol durch Auswaschen mit Aether entfernt und dann das fein verriebene Kasein im Soxhlet mehrere Stunden zur Entfernung des Fettes mit Aether extrahiert. Von dem so behandelten Kasein, das vorher noch an der Luft getrocknet wurde, brachte ich 0,2 gr zu 100 ccm 1%iger Natronlauge in ein Erlenmeyerkölbchen und kochte im Wasserbade 1 Stunde. Mit je 10 ccm dieser Lösung wurden die üblichen Reaktionsversuche angestellt, wobei bemerkt wurde, dass in den Röhrchen nur eine ganz geringe schwach grüne Färbung auftrat, sodass Vergleiche mit der so schwachen Lösung nicht vorgenommen werden konnten. Zu weiteren Versuchen wurde nun 1g des erhaltenen Kaseins in 100 ccm 1%iger Natronlauge gekocht. Bei dieser Konzentration an Kasein wurden dann schön grünblau gefärbte Lösungen erhalten. Die Bestimmung des Schwefelgehaltes wurde dann in der üblichen Weise ausgeführt.

In 13,00 mg N 0,0731 mg S = 0,562 % S in % des N
13,20 mg N 0,0731 mg S = 0,554 % S in % des N
12,90 mg N 0,0758 mg S = 0,555 % S in % des N
13,10 mg N 0,0758 mg S = 0,578 % S in % des N
13,50 mg N 0,0724 mg S = 0,543 % S in % des N
12,50 mg N 0,0678 mg S = 0,543 % S in % des N
13,10 mg N 0,0724 mg S = 0,552 % S in % des N

Im Mittel gefunden für Kasein aus Kuhmilch 0,555% S in % des Stickstoffs.

Kasein aus Ziegenmilch.

Das aus Ziegenmilch durch Essigsäurefällung gewonnene Kasein wurde gut mit Wasser ausgewaschen, dann mit Alkohol und Aether mehreremale dekantiert und im Soxhlet durch Extraktion mit Aether vom Fette befreit. 1 g des so gewonnenen Kaseins wurde in 100 ccm 1%iger Natronlauge gekocht und der Schwefel in der Lösung bestimmt.

In	13,2 mg N	0,064	mg S	=	0,472 % S in % des N
	11,9 mg N	0,056	mg S	=	0,470 % S in % des N
	13,2 mg N	0,064	mg S	=	0,472 % S in % des N
	13,0 mg N	0,0679	mg S	=	0,522 % S in % des N
	12,9 mg N	0,0634	mg S	=	0,491 % S in % des N
	12,5 mg N	0,06338	mg S	=	0,507 % S in % des N
	12,8 mg N	0,0647	mg S	=	0,506 % S in % des N

Im Mittel gefunden für Kasein aus Ziegenmilch 0,491% S in % des Stickstoffs.

Kasein aus Frauenmilch.

Die durch Zentrifugieren von ihrem Fettgehalte befreite Milch wurde mit $^1/_5$ ihres Volumens n/10 Essigsäure 5 Tage im Pergamentschlauch der Dialyse gegen täglich erneuertes Chloroformwasser unterworfen. Erst dann hatte sich das Kasein abgeschieden. Die Fällung wurde auszentrifugiert, auf einem Papierfilter mit schwachem Essigsäurewasser gut ausgewaschen, dann mit Alkohol und Aether dekantiert und im Soxhlet mehrere Stunden mit Aether zur Entfernung des Fettes extrahiert. Das so erhaltene Kasein wurde an der Luft getrocknet und 0,5 g desselben mit 50 ccm 1%iger Natronlauge im Wasserbade gekocht. Der abspaltbare Schwefel wurde in je 10 ccm der Lösung bestimmt.

In	8,53 mg N	0,1420 mg S	=	1,66 % S in % des Stickstoffs
	9,53 mg N	0,1525 mg S	=	1,59 % S
	9,821 mg N	0,1525 mg S	=	1,55 % S
	12,00 mg N	0,1760 mg S	=	1,47 % S
	11,80 mg N	0,1760 mg S	=	1,49 % S
	12,20 mg N	0,1760 mg S	=	1,43 % S

Im Mittel für Kasein aus Frauenmilch gefunden Schwefel in % des Stickstoffs 1,53%.

b) Kaseine aus gekochter Milch.

Kuhkasein.

Vom Fett befreite Milch wurde auf einem Bunsenbrenner 1 Stunde bei langsamen Kochen erhitzt, dann mit Essigsäure das Kasein aus der Lösung ausgefällt. In diesem wurde dann wie früher der Gehalt an abspaltbarem Schwefel bestimmt.

In	13,11 mg N	0,0759 mg S	=	0,578 % S in % des N
	12,899 mg N	0,0758 mg S	=	0,555 % S
	12,49 mg N	0,0677 mg S	=	0,544 % S

Im Mittel gefunden für Kasein aus gekochter Milch in % des Stickstoffs 5,59% Schwefel.

Aus den bei den einzelnen Kaseinarten gefundenen Zahlen ergeben sich für Kuhmilchkasein Werte von 0,555% Schwefel, die für Ziegenmilchkasein etwas tiefer bei 0,491% gefunden werden. Der Schwefelgehalt des Frauenmilchkaseins liegt beiden gegenüber in der dreifachen Höhe vor, nämlich bei 1,53% Schwefel in % des Stickstoffs.

Durch Untersuchung von Kuhkasein aus gekochter Milch wurde festgestellt, dass hier keine Veränderung im Schwefelgehalt vor sich gegangen war.

Aus den für die Kaseine gefundenen Werten lässt sich eine Verfälschung von Frauenmilch mit Kuh- oder Ziegenmilch nach der in meiner Arbeit besprochenen Methode leicht ermitteln.

c) Kasein aus Trocken- und Kondensmilch.

Trockenmilch.

Mehrere Proben sowohl frischer als auch schon stark ranziger Trockenmilch wurden in warmem Wasser gelöst, das Fett durch Abschleudern in der Zentrifuge möglichst entfernt, das Kasein mit Essigsäure gefällt und mit Alkohol und Aether gut ausgewaschen. Dann wurde noch mehrere Stunden im Soxhlet mit Aether extrahiert. Je 1 g der so erhaltenen Kaseine wurde in 100 ccm 1%iger Natronlauge 1 Stunde gekocht. Es wurde gefunden:

Im Kasein frischer Trockenmilch

in 10 ccm 13,3 mg N 0,0750 mg S = 0,565 % S in % des N
8,30 mg N 0,0470 mg S = 0,560 % S in % des N

In Kasein zersetzter Trockenmilch:

in 10 ccm 8,90 mg N 0,0485 mg S = 0,545 % S in % des N
9,50 mg N 0,0515 mg S = 0,542 % S in % des N

Im Mittel wurde gefunden sowohl für das Kasein der frischen als auch für das der zersetzten Trockenmilch 0,553% S in % des Stickstoffs. Wie aus obigen Zahlen zu ersehen ist, war also hier keine Veränderung des Schwefelgehaltes gegenüber den bei Kasein aus frischer Milch erhaltenen Werten vor sich gegangen.

Kondensmilch.

In einer als Magermilch bezeichneten Kondensmilch wurde wie früher das Kasein mit Essigsäure ausgefällt, und das Kasein wie üblich weiter behandelt:

In 10 ccm 12,90 mg N 0,0758 mg S = 0,555 % S in % des N
13,10 mg N 0,0758 mg S = 0,578 % S in % des N
13,50 mg N 0,0724 mg S = 0,552 % S in % des N

Im Mittel also auch für Kondensmilch gefunden 0,561% Schwefel in % des Stickstoffs. Es war also auch hier ebenso wie bei dem Kasein der Trockenmilch keine Veränderung des Schwefelgehaltes festzustellen.

d) Gesamtproteine der Milch.

Die Milch wurde durch Abschleudern in der Zentrifuge vom Fett befreit, mit Wasser zur Hälfte verdünnt und im Ultrafilter filtriert. Der auf dem Filter verbliebene Rückstand wurde nach den üblichen Verfahren auf abspaltbaren Schwefel untersucht.

Kuhmilch.

In 10 ccm 6,20 mg N 0,108 mg S = 1,74 % S in % N
7,40 mg N 0,130 mg S = 1,75 % S in % N
6,80 mg N 0,121 mg S = 1,77 % S in % N

Im Mittel also gefunden 1,75 % S in % N.

Ziegenmilch.

In 10 ccm	6,70 mg N	0,133 mg S	= 1,98 % S
	8,20 mg N	0,172 mg S	= 2,09 % S
	7,70 mg N	0,152 mg S	= 1,98 % S

Im Mittel also gefunden 2,01 % S in % des N.

Frauenmilch.

In 10 ccm	5,30 mg N	0,158 mg S	= 2,98 % S in % des N
	5,70 mg N	0,174 mg S	= 3,05 % S in % des N
	5,50 mg N	0,166 mg S	= 3,02 % S in % des N

Im Mittel also gefunden 3,01 % S in % des N.

Es wurde also ebenso wie bei dem Schwefelgehalt des Kaseins auch für das Gesamtprotein der Frauenmilch ein erheblich höherer Wert als bei dem Gesamtprotein der Kuh- und Ziegenmilch gefunden.

e) Milchserum.

Versuche, im Milchserum nach Ausfällen der Eiweisskörper sowohl in gekochter als auch in ungekochter Milch etwaigen Schwefelgehalt zu ermitteln, schlugen fehl, da durch den im Milchserum gelösten Milchzucker eine Reduktion des bei der Reaktion sonst auftretenden Farbstoffes bewirkt wurde. Es konnte so ein etwa vorhandener Schwefelgehalt nicht festgestellt werden.

8. Salzlösliche Proteine der Hülsenfrüchte.

Weisse Bohnen.

Mehrere Proben weisser Bohnen wurden in der Handmühle selbst gemahlen und das so erhaltene Mehl mit 10%iger Kochsalzlösung 3 Stunden geschüttelt, dann in der Zentrifuge abgeschleudert und das erhaltene Filtrat in 1%iger Natronlaugekonzentration 1 Stunde gekocht. Für die einzelnen Versuche waren je 20 g des Mehles mit 100 ccm 10%iger NaCl-Lösung 3 Stunden ausgezogen worden. Es wurde gefunden:

In 10 ccm	1,59 mg N	0,267 mg S	= 1,68 % S in % N
	1,65 mg N	0,278 mg S	= 1,68 % S in % N
	1,61 mg N	0,272 mg S	= 1,69 % S in % N

Im Mittel also gefunden 1,68% Schwefel in % des Stickstoffs für salzlösliches Protein der Bohnen.

Erbsen.

In 10 ccm	8,11 mg N	0,1015 mg S	= 1,25 % S
	8,00 mg N	0,0998 mg S	= 1,25 % S
	8,20 mg N	0,1015 mg S	= 1,24 % S

Im Mittel also gefunden 1,25% Schwefel in % des Stickstoff für salzlösliches Erbsenprotein.

Linsen.

In 10 ccm 12,27 mg N 0,1891 mg S = 1,54 % S
12,25 mg N 0,1891 mg S = 1,54 % S
12,50 mg N 0,2007 mg S = 1,60 % S

Im Mittel also gefunden 1,56% Schwefel in % des Stickstoffs für salzlösliches Protein der Linsen.

Es wurden also ungefähr die gleichen Werte für Bohnen und Linsen gefunden, während der Schwefelgehalt der Erbsen etwas tiefer lag.

9. Proteine der verschiedenen Fleischsorten.

a) Salzlöslisches Protein

Pferdefleisch.

Fleischstücke verschiedener Körperteile eines Pferdes wurden von Fett und Sehnen befreit und in der Hackmaschine vermahlen. Dann wurde solange mit Wasser ausgewaschen, bis die Waschflüssigkeit klar ablief, d. h. die Muskelteile grösstenteils vom Blute befreit waren. Nun wurde in einem Coliertuche schwach abgepresst und die erhaltene Masse mit 10 prozentiger Natriumchloridlösung gut verrieben und 2 Stunden stehen lassen. Dann wurde das erhaltene Filtrat vermittels eines Koliertuches von der Fleischmasse abgepresst. Von der so erhaltenen Flüssigkeit wurden je 10 ccm mit 100 ccm 1 prozentiger Natronlauge 1 Stunde gekocht. Aus der so erhaltenen Lösung wurde auf übliche Weise der Schwefel ermittelt.

In 4,40 mg N = 0,041 mg S = 0,932 % S in % des Stickstoffs
3,90 mg N = 0,0375 mg S = 0,912 % S
3,20 mg N = 0,0306 mg S = 0,956 % S
3,97 mg N = 0,0401 mg S = 1,010 % S
4,07 mg N = 0,0416 mg S = 0,984 % S
3,70 mg N = 0,0351 mg S = 0,948 % S

Im Mittel also gefunden für salzlösliches Protein des Pferdefleisches 0,957 % S in % des Stickstoffs.

Rindfleisch.

In derselben Weise wie bei Pferdefleisch wurde auch Rindfleisch behandelt und in den einzelnen Versuchen gefunden:

In 10 ccm 2,89 mg N 0,0301 mg S = 1,04 % S in % des N
2,94 mg N 0,0301 mg S = 1,05 % S
2,57 mg N 0,0251 mg S = 0,976 % S
4,70 mg N 0,0488 mg S = 1,030 % S
4,50 mg N 0,0458 mg S = 1,02 % S
6,10 mg N 0,0603 mg S = 0,988 % S
7,01 mg N 0,0704 mg S = 1,00 % S

Im Mittel gefunden 1,01% Schwefel im salzlöslichen Protein des Rindfleisches.

Schweinefleisch.

Wie bei Rind- und Pferdefleisch wurde auch im Schweinefleisch der Gehalt an abspaltbarem Schwefel ermittelt.

In 10 ccm	16,03 mg N	0,2180 mg S	=	1,36 % S	in % des N
	17,06 mg N	0,2336 mg S	=	1,37 % S	
	15,5 mg N	0,2180 mg S	=	1,50 % S	
	5,40 mg N	0,0760 mg S	=	1,40 % S	
	6,01 mg N	0,0830 mg S	=	1,37 % S	
	5,51 mg N	0,0760 mg S	=	1,35 % S	

Im Mittel gefunden 1,39% Schwefel für salzlösliches Protein des Schweinefleisches.

Die Untersuchungen der einzelnen Myosine ergeben also für Pferde- und Rindfleisch dieselben Werte, während bei Schweinefleisch ca. 30% höhere Werte gefunden wurden.

Salzlösliches Protein aus gekochtem Fleisch.

Frisches Rindfleisch wurde 2 Stunden gekocht, dann vermahlen und in je 100 gr mit 10%iger NaCl-Lösung das Protein ausgezogen, die Flüssigkeit wurde abgesaugt und durch Einstellen in eine Kältemischung das Fett abgeschieden. Dann wurde wie bei frischem Fleisch der Schwefelgehalt in der Lösung ermittelt.

In 10 ccm	4,51 mg N	0,046 mg S	=	1,02 % S	in % des N
	7,012 mg N	0,0705 mg S	=	1,00 % S	
	2,572 mg N	0,0302 mg S	=	1,05 % S	

Im Mittel also gefunden 1,02% Schwefel im Protein des vorher gekochten Fleisches. Da hier dieselben Werte gefunden waren wie bei frischem Fleisch, ist also keine Veränderung des Schwefelgehaltes durch das Kochen vor sich gegangen. Versuche, Schwefel in der durch das Kochen des Fleisches erhaltenen Fleischbrühe nachzuweisen, blieben ohne Erfolg. Es konnte hier Schwefel nicht festgestellt werden.

b) Rindfleisch in verschiedenen Stadien der Zersetzung.

5 Proben zu je 30 g Rindfleisch wurden in kleine Stücke zerschnitten und in Bechergläsern verschieden lange Zeit stehen lassen. In einer frischen Probe von 30 g desselben Fleisches wurde der Schwefelgehalt gleich ermittelt und zu 1,07% gefunden.

Die folgenden Werte ergeben die Veränderung des Schwefelgehaltes bei beginnender und starker Zersetzung des Fleisches. Es wurde gefunden :

Nach	12 stündigem Stehen	in % des N	=	1,013 % Schwefel
	24 stündigem Stehen	in % des N	=	0,891 % Schwefel
	48 stündigem Stehen	in % des N	=	0,823 % Schwefel
	72 stündigem Stehen	in % des N	=	0,591 % Schwefel
	96 stündigem Stehen	in % des N	=	0,374 % Schwefel

Die drei ersten Proben waren noch in der durch die Kochsalzlösung erhaltenen Auszugflüssigkeit angestellt worden. Die beiden letzten Auszüge waren aber derartig trübe und verfärbt, dass aus ihnen mit Essigsäure das Protein gefällt und dann das gefällte Protein untersucht wurde.

Es zeigte sich also hier bei der Zersetzung des Fleisches eine konstante Abnahme des Schwefelgehaltes in % des Stickstoffs.

Dann wurden noch mehrere Proben von je 10 g frischem Fleisch in Bechergläsern 12, 18, 24 und 48 Stunden stehen lassen, dann mit Wasser ausgezogen und der Auszug auf einen eventl. Gehalt an Schwefel untersucht. Nach 12 Stunden war eine eben beginnende Zersetzung des Fleisches zu bemerken, jedoch konnte in der wässerigen Lösung auch nach 18, 24 und 48 Stunden, wo das Fleisch schon in lebhafter Zersetzung begriffen war, kein Schwefel gefunden werden. Anscheinend erfolgt also hier die Oxydation des abgebauten Schwefelwasserstoffs in demselben Masse wie der Abbau des Schwefels durch die Zersetzung des Fleisches stattfindet. Dieselbe Erscheinung wurde ja auch bereits bei in Natronlauge stehen gelassenen Lösungen von Albumin und Gliadin beobachtet.

10. Proteine der Gemüse.

Kartoffeln.

500 g Kartoffeln wurden in der Fleischhackmaschine fein gehackt und der entstandene Brei durch ein Koliertuch abgepresst. Die erhaltene Flüssigkeit wurde in der Zentrifuge abgeschleudert, das Filtrat vom Rückstande abgegossen, mit Wasser verdünnt und dann mit Essigsäure der Proteinkörper ausgefüllt, da Versuche, die ausgepresste Flüssigkeit mit Natronlauge zu kochen, eine starke Braunfärbung der Lösung zeigten. Es musste also die in dieser Lösung vorhandene Stärke entfernt werden, was, wie oben angegeben, durch Fällung des Eiweisskörpers aus der Lösung erreicht wurde. Teile des so erhaltenen Proteins wurden in 100 ccm 1 prozentiger Natronlauge 1 Stunde gekocht und der Schwefelgehalt in der Lösung ermittelt.

In 10 ccm	4,02 mg N	0,172 mg S	= 4,29 % S	in % des N
	3,50 mg N	0,1531 mg S	= 4,37 % S	
	3,49 mg N	0,1537 mg S	= 4,38 % S	

Im Mittel also gefunden 4,34 % Schwefel in % des Stickstoffs bei Kartoffelprotein.

Karotten.

Aus Karotten wurde in derselben Weise wie bei Kartoffeln angegeben der Proteinkörper ausgefällt und Teile desselben in Natronlauge gekocht. Es wurde gefunden :

Im Protein der Karotten :	3,97 % S in % des N
	3,62 % S
	3,37 % S
	3,41 % S
	3,82 % S
Im Mittel also gefunden	3,63 % S in % des N

Weisskraut.

Das Protein des Weisskrautes wurde in derselben Weise wie bei Kartoffeln und Karotten gewonnen und untersucht. Es wurde gefunden :

Im Protein des Weisskrautes : 5,01 % S in % des N
4,78 % S
4,83 % S
4,91 % S
Im Mittel also gefunden 4,88 % S in % des N

Es wurden also hier recht hohe Werte an Schwefel im Protein der einzelnen Gemüse gefunden. Die Werte lagen also bedeutend höher als bei den meisten übrigen Proteinen. Nur beim Haferprotein war ein noch höherer Proteingehalt beobachtet worden.

Sauerkraut und Sauerkrautbrühe.

Von einer Probe Sauerkraut wurde die Brühe gelinde abgepresst und versucht, vermittels Essigsäure den Eiweisskörper zur Untersuchung auszufällen, was jedoch nicht mehr gelang. Anscheinend ist also hier der Eiweisskörper schon derartig abgebaut, dass eine Fällung mit Essigsäure nicht mehr erreicht werden kann. Dieselben Versuche wurden nun durch Mahlen des Sauerkrautes und Auspressen des so erhaltenen Saftes angestellt. Aber auch hier konnte durch Essigsäure keine Fällung des Eiweisskörpers mehr erreicht werden. Versuche, die Lösung ohne zu fällen, mit Natronlauge zu kochen, zeigten eine starke Braunfärbung. Beim Zubringen dieser Lösung zu den Reagenzien trat zwar an der Berührungsfläche beider noch eine Blaufärbung auf, die aber sofort wahrscheinlich infolge Reduktion der mitgelösten organischen Körper verschwand. Es konnte also auch hier der Gehalt an Schwefel nicht ermittelt werden.

11. Kakao, Milchschokolade und Milchbrötchen.

Kakao.

Mehrere Proben von je 10 g Kakao wurden mit 60, 75 und 90 prozentigem Alkohol mehrere Stunden geschüttelt. In den einzelnen Proben wurde der Alkohol verdampft, der Rückstand mit 1 prozentiger Natronlauge aufgenommen und 1 Stunde gekocht. Hier zeigte sich eine tief-rote Färbung der einzelnen Lösungen, die beim Kochen mit Natronlauge in eine schmutziggraue Färbung überging. Versuche, die Färbung des Kakaorotes zu beseitigen, blieben ohne Erfolg, zumal da sich aus der alkohol. Lösung der Eiweisskörper des Kakaos nicht ausfällen liess. In den einzelnen Fraktionen wurde dann der Stickstoff bestimmt und die folgenden Werte gefunden :

In % des Kakao an Stickstoff ausgezogen mit :

90 % tigem Alkohol	75 % tigem Alkohol	60 % tigem Alkohol
0,316	0,375	0,424
0,310	0,381	0,437

Auszüge von Kakao mit 1 prozentiger Natriumoxalatlösung :

Beim Ausziehen von je 10 g Kakao mit 1 prozentiger Natriumoxalatlösung nach der im Beythien 1) angegebenen Methode wurde aus mehreren Proben der Stickstoff bestimmt und gefunden :

I. 1,39 % N II. 1,42 % N III. 1,41 % N IV. 1,38 % N.

1) Beythien, Handbuch der Nahrungsmittel-Untersuchung.

Es wurde also gezeigt, dass beim Ausziehen nach dieser Methode erhebliche Mengen des Kakaoeiweisses in Lösung gebracht werden, die beim Bestimmen des Kaseins bei der Untersuchung der Milchschokolade (Beythien) das zu erwartende Resultat stark beeinflussen müssen. Die oben angegebenen Stickstoffresultate beziehen sich auf aufgeschlossenen Kakao.

Milchschokolade.

Bei Milchschokolade bereitete die Untersuchung auf abspaltbaren Schwefel dieselben Schwierigkeiten, ausserdem müssten auch zu grosse Mengen der Schokolade für die Untersuchungen verwandt werden, da sonst nicht genügende Mengen von Proteinsubstanz erhalten würden, um eine mit den üblichen Reagenzien erhaltene vergleichbare Färbung zu bekommen, da ja bekanntlich, wie bereits früher bewiesen, der Schwefelgehalt des Kaseins nur sehr klein ist.

Milchbrötchen.

Aus feingemahlenen Brötchen wurde durch Kochen mit 1 prozentiger Natriumoxalatlösung das Protein ausgezogen, da sich durch Bestimmung des Schwefelgehalts des so erhaltenen Proteins eine Möglichkeit finden konnte, den Gehalt an zugesetzter Milch bei Milchbrötchen festzustellen oder als Milchbrötchen bezeichnete Brötchen als solche zu identifizieren. Zu diesem Zwecke wurden 40 g getrocknete Brötchenkrume mit 200 ccm 1 prozentiger Natriumoxalatlösung eine Stunde gelinde gekocht und dann 24 Stunden stehen gelassen, um ein Absetzen der Flüssigkeit zu erreichen und das in der Lösung enthaltene Protein auf den Schwefelgehalt zu untersuchen. Durch das Kochen wurde durch die mitgelöste Stärke ein derartiger Kleister gebildet, dass weder durch Verdünnen mit Wasser noch durch Schleudern in der Centrifuge ein Absetzen des Ungelösten erreicht werden konnte, sodass von weiteren Versuchen Abstand genommen werden musste.

Uebersicht der bei den einzelnen Proteinkörpern gefundenen Werte an abspaltbarem Schwefel mit p-Amidodimethylanilin.

Frisches Eieralbumin	2,79 % S	in % des N
Koaguliertes Eiweiss	2,80 % S	
Trockeneiweiss	2,55 % S	
Gliadin des Weizens	3,05 % S	
Gliadin des Roggens	3,53 % S	
Gliadin des Weizenschrotes	3,33 % S	
Gliadin des Roggenschrotes	3,74 % S	
Zein des Maises	1,22 % S	
Hordein der Gerste	2,18 % S	
Protein des Hafers, alkohollösl.	7,21 % S	
Protein der Haferflocken, alkohollösl.	2,65 % S	
Protein des Reises, alkohollösl.	2,12 % S	
Globulin des Weizens, salzlöslich	2,50 % S	
Globulin des Roggens, salzlöslich	2,79 % S	
Globulin des Maises, salzlöslich	2,76 % S	

Globulin der Gerste, salzlöslich	0,91 % S
Globulin des Hafers, salzlöslich	2,80 % S
Protein des Weissbrotes, alkohollösl.	1,61 % S
Protein des Roggenbrotes, alkohollösl.	0,79 % S
Protein zersetzten Weizenmehles	3,03 % S
Kasein aus Kuhmilch	0,555% S
Kasein aus Ziegenmilch	0,491% S
Kasein aus Frauenmilch	1,53 % S
Kasein aus Trockenmilch	0,553% S
Kasein aus Kondensmilch	0,561% S
Gesamtprotein der Kuhmilch	1,75 % S
Gesamtprotein der Ziegenmilch	2,01 % S
Gesamtprotein der Frauenmilch	3,01 % S
Protein der Erbsen, salzlöslich	1,25 % S
Protein der Bohnen, salzlöslich	1,68 % S
Protein der Linsen, salzlöslich	1,56 % S
Myosin des Pferdefleisches, salzlösl.	0,957% S
Myosin des Rindfleisches, salzlösl.	1,01 % S
Myosin des Schweinefleisches, salzlösl.	1,39 % S
Myosin des gekochten Fleisches bei Rindfleisch	1,02 % S

Proteine der Gemüse.

Kartoffeln	4,34 % S
Karotten	3,63 % S
Weisskraut	4,88 % S

Im Nachfolgenden ist das Ergebnis meiner Arbeiten zusammengefasst.

Zusammenfassung der Ergebnisse und Schluss.

Die Hauptergebnisse meiner Arbeit lassen sich in folgende Schlußsätze zusammenfassen :

1. Die in den Proteinstoffen vorkommenden Schwefelverbindungen sind zum Teil lose gebundene, sodass beim Kochen mit Alkalien der Schwefel in Form von Schwefelwasserstoff abgespalten wird. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Hilfe einer analytisch leicht ausführbaren Methode den Gehalt der verschiedensten Proteine an abspaltbarem Schwefel zu bestimmen.
2. Vorversuche zeigten, dass einstündiges Kochen der Proteinkörper mit 1 prozentiger Natronlauge genügte, um praktisch dasselbe Resultat zu erhalten als bei längerem Kochen und Anwendung stärkerer Natronlauge.
3. Da ich den abspaltbaren Schwefel auf kolorimetrischem Wege bestimmen wollte, so war die Herstellung einer haltbaren, geeigneten Vergleichslösung die Grundlage aller weiteren Untersuchungen. Die Untersuchungen in dieser Richtung ergaben, dass eine 10 prozentige Na_2S-Lösung (Kahlbaum), ohne sich zu oxydieren, monatelang fast unverändert haltbar war. Diese Lösung wurde jedesmal vor den einzelnen Versuchen verdünnt. Die verdünnten Lösungen waren genügend lang haltbar, um die damit anzustellenden Versuche auszuführen. Die Verdünnungen wurden jedesmal mit aus-

gekochtem, destilliertem Wasser angestellt. In jedem Falle wurde aber auch in der verdünnten Lösung der Gehalt an H_2S durch Eintragen der Natriumsulfidlösung in überschüssige Jodlösung und Rücktitration mit Natriumthiosulfat bestimmt. Von allen in der Literatur erwähnten Bestimmungen des Schwefelwasserstoffs in Lösungen fand ich diese Methode als die genaueste.

4. Es wurde zunächst versucht, in Anlehnung an die kolorimetrischen Bestimmungen des Schwefelwasserstoffs in Trinkwasser mit Hilfe von Bleinitratlösungen eine geeignete kolorimetrische Methode zur Bestimmung des abspaltbaren Schwefels auszuarbeiten. Verschiedene hierbei auftretende Schwierigkeiten wurden überwunden. Es zeigte sich dann schliesslich, dass dieses Verfahren bei allen den Proteinen, die von Zucker oder Stärke begleitet sind, wegen der bei der alkalischen Kochung auftretenden Gelbfärbungen nicht zweckmässig war.

5. Deshalb versuchte ich die Methode Caros zum Nachweis des H_2S, welche auf der Bildung von Methylenblau mit p-Amidodimethylanilin bei Gegenwart von Salzsäure und Eisenchlorid beruht, für meine Zwecke kolorimetrisch zu gestalten. Es zeigte sich, dass die auftretenden Blaufärbungen bei Einhaltung einer bestimmten Vorschrift je nach dem Gehalt an H_2S schön abgestuft waren.

   Es zeigte sich aber weiter, dass die Stärke der Färbung in hohem Grade beeinflusst ist von der Gegenwart und Natur anderer, insbesondere organischer Stoffe.

6. Um deshalb das kolorimetrische Verfahren mit diesem Reagenz brauchbar gestalten zu können, war die erste Voraussetzung, dass die zu schaffende Vergleichslösung genau dieselben störenden Stoffe nach Art und Menge enthielt, wie sie in der zu untersuchenden Lösung vorhanden waren. Ich verfuhr daher so, dass ich von den mit 1 prozentiger Natronlauge gekochten Eiweisslösungen zweimal 10 ccm in je ein Planktonröhrchen zu 1 ccm des Reagenzes, 1 ccm konz. Salzsäure und 0,5 ccm 5 prozentiger Eisenchloridlösung brachte. Die Vergleichslösung wurde aus 60 ccm der alkalischen Eiweisslösung in der Weise bereitet, dass 6 ccm Salzsäure zugegeben wurden und die Lösung durch Durchleiten von Luft an der Wasserstrahlpumpe vom H_2S befreit wurde. Von der so erhaltenen Lösung wurden je 11 ccm in die Vergleichsröhren gebracht, die je 1 ccm der Reagenzlösung und 1 ccm 5 prozentige Eisenchloridlösung enthielten. Die Vergleichslösungen enthielten also mit Ausnahme der geringen Menge zugefügter Natriumsulfidlösung dieselben Bestandteile wie die Proteinlösung. Die in den einzelnen Röhrchen unter Bildung von Methylenblau auftretenden Färbungen wurden nun verglichen und aus dem Schwefelgehalt des farbengleichen Vergleichsröhrchens der Schwefelgehalt des zu untersuchenden Körpers unter Bezugnahme auf den Stickstoffgehalt der Lösung rechnerisch ermittelt.

7. Nach der angegebenen Methode liessen sich die verschiedenen Proteinkörper auf ihren Gehalt an lose gebundenem Schwefel leicht untersuchen. Der Gehalt an Schwefel wurde in allen Fällen auf den Gehalt an Stickstoff in den Eiweisslösungen bezogen. Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt. Der gefundene

Schwefel wurde immer in Prozenten des Stickstoffs angegeben. Die bei den einzelnen Körpern gefundenen Werte sind aus der auf S. 36 angeführten Tabelle zu ersehen.

8. Der Gehalt an abspaltbarem Schwefel im Albumin des Hühnereies wurde im Mittel zu 2,79 % gefunden. Dauerpräparate, getrocknetes Eieralbumin enthielten nur 2,55 %. Der Schwefelgehalt bei letzterem liegt etwas tiefer, was wohl auf eine Abspaltung des Schwefels bei der Trocknung, resp. Aufbewahrung zurückzuführen ist. Das Phosphorprotein des Eidotters wies einen etwas geringeren Gehalt von im Mittel 2,00 % Schwefel in % des Stickstoffs auf.
9. Das Weizenprolamin enthielt im Mittel vieler Bestimmungen 3,05 % abspaltbaren Schwefel. Es waren Mehle der verschiedensten Herkunft mit den verschiedensten Alkoholkonzentrationen ausgezogen worden, wobei überall dieselben Werte gefunden wurden. Weizenschrote enthielten etwas mehr Schwefel, nämlich 3,33 %, woraus folgt, dass die Proteinstoffe der Aleuronschicht und des Keimlings etwas schwefelreicher sind als die des Endosperms.
10. Aehnliche Resultate wie bei Weizenprolamin wurden beim Roggen erhalten, der Schwefelgehalt erwies sich in feinen Mehlen als etwas höher, im Mittel 3,35 %. Die Eiweisskörper des gesamten Kornes (Schrot) erwiesen sich auch hier ebenso wie bei Weizenschrot als schwefelreicher, im Mittel gefunden 3,74 % Schwefel in % des Stickstoffs. Aus diesen Zahlen ergibt sich weiter, dass das Roggenprolamin bestimmt nicht mit Weizenprolamin identisch sein kann, was noch in jüngster Zeit von einigen Forschern behauptet wurde.
10. Das Zein des Maises ist viel schwefelärmer als Roggen- und Weizenprolamin. Im Mittel vieler Bestimmungen wurde der abspaltbare Schwefel zu 1,22 % gefunden. Die Bestimmung des abspaltbaren Schwefels in alkoholischen Auszügen von Gemischen aus Roggen- und Weizenmehl lässt also eine Verfälschung des Weizens mit Maismehl auf chemischem Wege nach dieser Methode erkennen. Voraussetzung ist allerdings, dass keine Verfälschung mit anderen Mehlarten vorliegt. Liegt dann der Schwefelgehalt des erhaltenen Proteins wesentlich unter 3 %, so ist mit Sicherheit eine Verfälschung des Weizenmehles mit Mais nachgewiesen. Von einer quantitativen Ausgestaltung dieser Methode wurde abgesehen, da z. Zt. im hiesigen Institut eine wesentlich einfachere Methode zum Nachweise von Maismehl in Weizenmehl ausgearbeitet wird.
11. Die für alkohollösliches Protein der Gerste gefundenen Werte liegen im Mittel zwischen denen des Roggens und des Weizens. Es ist also auch hier das Prolamin wesentlich schwefelärmer als Weizen- und Roggenprolamin.
12. Wesentlich höher als bei allen andern untersuchten Proteinkörpern liegt der Schwefelgehalt bei dem alkohollöslichen Prolamin des Hafers. Im Mittel 7,21 % Schwefel. Der Schwefelgehalt wird aber schon bei gewissen Zubereitungen zum grossen Teil abgespalten bezw. oxydiert, so fand ich in einer Probe Haferflocken, die von der Lieferfirma als hochgradig aufgeschlossen bezeichnet waren, nur noch 2,65 % Schwefel.
13. Aus Reis lässt sich durch Alkohol verschiedenster Konzentration nur sehr wenig Protein ausziehen. Der abspaltbare Schwefel wurde in Prozenten des Stickstoffs zu 2,12 % gefunden.

14. Ausser alkohollöslichen Proteinen enthalten die meisten Mehle noch salzlösliche Proteine, die als Globuline bezeichnet werden. Es zeigte sich, dass die Globuline in ihrem Schwefelgehalt von denen der entsprechenden Prolamine nicht sehr verschieden sind. Bei Mais lagen die Werte etwas höher als bei dem alkohollöslichen Protein, während sie bei Weizen, Roggen, Hafer und Gerste etwas tiefer lagen.
15. Bei der Bestimmung des Schwefelgehaltes in den sogen. Gluteninen, einer dritten Klasse von Proteinstoffen, die in den meisten Mehlen vorkommen, traten analytische Schwierigkeiten ein, so dass ich den Gehalt dieser Stoffe an Schwefel nicht mit Sicherheit ermitteln konnte.
16. Die Proteinstoffe der verschiedenen Brotsorten zeigten in den alkohollöslichen Proteinen einen erheblich niedrigeren Gehalt an Schwefel als die entsprechenden Proteinstoffe der zum Backen verwandten Mehle. So wiesen die Proteine aus Weizenbrötchen nur noch 1,61 % abspaltbaren Schwefel gegenüber 3,05 % bei Weizenmehl auf. Bei Roggenmehl machte sich eine noch stärkere Abnahme des Schwefelgehaltes bemerkbar, sodass hier nur noch 0,79 % Schwefel gefunden wurde, während das Protein des Roggenmehles einen Gehalt von 3,53 % aufwies.

    Es wird also durch die Untersuchung des alkohollöslichen Proteins der einzelnen Brotarten eine erhebliche Veränderung des Gehaltes an abspaltbarem Schwefel gefunden, was wohl beim Weizenbrot auf die beim Backprozess einwirkende Hitze zurückzuführen ist, während beim Roggenbrot, wo die Werte sich ganz erheblich geändert haben, offenbar auch eine Einwirkung des Sauerteiges auf den Schwefelkörper stattfindet.
17. Verschiedene Proben zersetzten Mehles, deren alkoholl. Protein ebenfalls untersucht wurde, zeigten gleichen Schwefelgehalt wie die untersuchten frischen Mehle.
18. Bei den Kaseinen verschiedener Milcharten wurde für Frauenmilch eine Mittelzahl von 1,53 %, für Ziegenmilch 0,491 % und für Kuhmilch 0,555 % gefunden. Es zeigt sich also, dass die Kaseine der Kuh- und Ziegenmilch sich nicht wesentlich unterscheiden, während bei Frauenmilch diesen gegenüber die dreifache Menge abspaltbaren Schwefels gefunden wird. Aus den so erhaltenen Resultaten lässt sich infolge des hohen Schwefelgehaltes des Frauenkaseins eine Verfälschung der Frauenmilch mit Ziegen- oder Kuhmilch leicht ermitteln. Auch bei den Gesamtproteinen der verschiedenen Milchsorten wurden für Frauenmilch höhere Werte gefunden als für Kuh- und Ziegenmilch. Frauenmilchkasein enthielt 1,53 %, Kuhmilchkasein 0,555 und Ziegenkasein 0,491 % Schwefel, während im Gesamtprotein der Frauenmilch 3,01 %, der Kuhmilch 1,75% und der Ziegenmilch 2,01% abspaltbaren Schwefel) gefunden wurde.
19. Salzlösliche Proteine der Hülsenfrüchte wiesen für Erbsen einen Gehalt von 1,25 %, für Linsen einen Gehalt von 1,56 % und für Bohnen 1,68 % an abspaltbarem Schwefel auf. Die einzelnen Werte sind also an sich nicht sehr verschieden.
20. Die Myosine der verschiedenen Fleischsorten zeigen ziemlich denselben Gehalt an Schwefel. Insbesondere das Myosin des Pferde- und Rindfleischs weist keinen Unterschied auf, während das Schweinefleisch einen etwa 30% höheren Schwefelgehalt zeigt.

Bei der Zersetzung von Rindfleisch durch längeres Aufbewahren an der Luft zeigte sich mit der Zeit fortschreitend eine erhebliche Verminderung des Schwefelgehaltes. So wurde bei frischem Fleisch 1,01 % Schwefel in % des Stickstoffs gefunden, während nach 96-stündigem Stehenlassen an der Luft in derselben Stickstoffmenge nur noch 0,374 % Schwefel gefunden wurde, wodurch eine starke Veränderung des Schwefelkörpers bewiesen wird.

21. Proteine der Gemüse. Von den einzelnen Gemüsen untersuchte ich die Eiweisskörper durch Fällung des im Saft gelösten Eiweisskörpers mit Essigsäure. Bei allen wurde ein ziemlich hoher Schwefelgehalt gefunden. So z. B. für Kartoffeln 4,34 %, für Karotten 3,63 % und für Weisskraut 4,88 % abspaltbarer Schwefel in % des N.

Die vorliegende Arbeit wurde in dem Universitäts-Institut für Nahrungsmittelchemie, Frankfurt am Main, auf Anregung des Institutsdirektors,

Herrn Prof. Dr. J. TILLMANS,

unternommen und durchgeführt. Ich erlaube mir, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. Tillmans, meinem verehrten Lehrer, für die jederzeit bereitwilligst erteilten, wertvollen Ratschläge herzlichen Dank auszusprechen.

LEBENSLAUF

Am 22. Juli 1897 wurde ich als Sohn des Konrektors Nikolaus Theobald und seiner Ehefrau Katharina geb. Guldner in Kerlingen a. d. Saar geboren. Ich besuchte das Gymnasium zu Saarlouis bis zum Jahre 1915, von wo ich mich im Frühjahr 1915 als Kriegsfreiwilliger zum Heeresdienst meldete. Nach mehreren Jahren Frontdienst wurde ich im Februar 1919 in die Heimat entlassen. Nachdem ich im Mai 1919 meine Reifeprüfung bestanden hatte, trat ich als Praktikant in die Apotheke zu Speicher ein und studierte nach bestandenem Vorexamen vom W.-S. 1920 bis W.-S. 1921 an der Universität in Bonn, vom S.-S. 1921 bis W.-S. 1922 in Marburg und vom S.-S. 1923 bis S.-S. 1924 in Frankfurt am Main Pharmazie. In Frankfurt am Main bestand ich am 18. Oktober 1923 mein Staatsexamen als Apotheker. Im Oktober 1923 begann ich im Universitätsinstitut für Nahrungsmittelchemie unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Tillmans die vorliegende Arbeit.

Caspar Theobald.